

UNIVERSIDADE SÃO FRANCISCO
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde

GLENDIA BEATRIZ BRAZÃO BUZAGLO

**EFEITO DE UMA SESSÃO DE TREINAMENTO COMBINADO
REALIZADO ANTES DO TRATAMENTO ONCOLÓGICO
SOBRE AS QUIMIOCINAS CIRCULANTES EM MULHERES
COM CÂNCER DE MAMA**

Bragança Paulista

2024

GLENDIA BEATRIZ BRAZÃO BUZAGLO – R.A: 202327403

**EFEITO DE UMA SESSÃO DE TREINAMENTO COMBINADO
REALIZADO ANTES DO TRATAMENTO ONCOLÓGICO
SOBRE AS QUIMIOCINAS CIRCULANTES EM MULHERES
COM CÂNCER DE MAMA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Ciências da Saúde

Orientador: Prof. Dr. Miguel Soares Conceição

Bragança Paulista

2024

WP 870
B996e

Buzaglo, Glenda Beatriz Brazão

Efeito de uma sessão de treinamento combinado realizado antes do tratamento oncológico sobre as quimiocinas circulantes em mulheres com câncer de mama / Glenda Beatriz Brazão Buzaglo. -- Bragança Paulista, 2024.

50 p.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco.

Orientação de: Miguel Soares Conceição.

1. Neoplasias da Mama. 2. Quimiocinas.
3. Exercício Físico. I. Conceição, Miguel Soares.
II. Título.



Educando
para a paz

BUZAGLO, Glenda Beatriz Brazão. "Efeito de uma sessão de treinamento combinado realizado antes do tratamento oncológico sobre as quimiocinas circulantes em mulheres com câncer de mama". Dissertação defendida e aprovada no programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco em 17 de dezembro de 2024 pela Banca examinadora constituída pelos professores:

Prof(a). Dr(a). Miguel Soares Conceição - Orientador(a) e Presidente
Universidade São Francisco

Prof(a). Dr(a). Cláudia Cavaglieri
(por videoconferência)
Universidade Estadual de Campinas

Prof(a). Dr(a). Manoela Marques Ortega
Universidade São Francisco

A Deus pelo dom da vida e por mais uma graça alcançada.

À todas as pacientes oncológicas que lutam bravamente pela cura.

Aos meus pais Abraam e Marli por não desistirem de lutar pela minha vida e educação.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e por todo milagre que me permitiu vivenciar e todas as bênçãos diárias.

Aos meus queridos pais Abraam e Marli, pelo amor incondicional, e por me ensinarem o caminho da persistência e da fé em todos os momentos.

Ao meu esposo Ricardo Bruno que vivenciou ao meu lado as lutas e vitórias diárias, além da cumplicidade, amor, carinho e companheirismo ao longo desses anos.

Aos meus irmãos Gustavo e Abraam, por todo o apoio ao longo desse processo.

À minha querida Tia Sônia, pelas incansáveis horas de oração cotidianas.

A meu orientador Miguel Soares Conceição, pelo acolhimento, confiança, apoio, orientação e ensinamentos.

À Universidade São Francisco – USF, em nome de todos os professores da pós graduação em ciências da saúde.

Ao Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti - CAISM /UNICAMP, onde este projeto foi executado.

Ao Centro de Pesquisas em Saúde Reprodutiva de Campinas – CEMICAP, onde o Laboratório de Estudos em Exercício e Oncológica -CEEEO, está vinculado.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Fapesp pela bolsa de mestrado (processo **2023/02500-2**) concedida

À todas as pacientes oncológicas que fizeram parte desse estudo e lutam bravamente pela sua recuperação e cura.

*“Não haverá borboletas se a vida não passar por
longas e silenciosas metamorfoses.”*

Rubem Alves

RESUMO

O câncer de mama é o tipo mais incidente e a principal causa de morte por câncer entre as mulheres. Embora sua origem seja multifatorial, o câncer de mama é considerado uma doença crônico-degenerativa desencadeada por um processo inflamatório, no qual as quimiocinas desempenham um papel importante, contribuindo para desenvolvimento e proliferação do câncer. O exercício físico, particularmente o treinamento físico combinado (i.e. treinamento aeróbio + treinamento de força) surge como um potencial modulador desse processo, tanto na redução do processo inflamatório associado à expressão de quimiocinas circulantes quanto na melhoria de condições clínicas e fisiológicas da paciente. Contudo, poucas são os estudos realizados até o presente sobre o efeito do exercício físico nas quimiocinas em pacientes com câncer de mama. Determinar o efeito de uma sessão de treinamento combinado (TC), realizado antes do tratamento oncológico nas quimiocinas em mulheres com câncer de mama. 13 Mulheres com carcinoma de mama tipo Luminal e não luminal HER2+ (9), Luminal HER2 negativo (3) e triplo negativo (1), com idade $49\pm 5,88$, IMC $31,7\pm 5,97$, KI67 $25,0 (\pm 21,3)$ foram recrutadas para participar do estudo. Todas as participantes realizaram uma sessão de TC que consistiu em um protocolo de treinamento de força com 5 exercícios de 8-12 repetições máximas, seguido de um protocolo de treinamento aeróbio intervalado de alta intensidade, composto por 3 séries de 2 min no delta 50% por 2 min de recuperação ativa (20% do $VO_{2máx}$) no cicloergômetro. As coletas de sangue que ocorreram antes e imediatamente após uma sessão de TC para analisar as seguintes quimiocinas e citocinas: IFN γ , IL-1 β , IL1-RA, TNF α , IL8/CXCL8, IP10/CXCL10, MCP-1/CCL2, MDC/CCL22, MIG/CXCL9, MIP-1 α /CCL3, RANTES/CCL5, 6CKine/CCL21, CXCL16, I-TAC/CXCL11, TARC/CCL17, SDF-1/CXCL12, GCP-2/CXCL6, MIP-3 β /CCL19. Para a comparação das quimiocinas e citocinas pré e pós exercício foi utilizado um teste t para amostras dependentes e a significância adotada foi de $P < 0,05$. Houve um aumento na concentração da quimiocina 6CKine/CCL21 de maneira significativa, com a modificação percentual de $\Delta\% = 8,13$. Outros marcadores importantes, bem como IL-1 β , IL8/CXCL8, MCP-1/CCL2, MIG/CXCL9, IFN γ , MDC/CCL22, MIP-1 α /CCL3, não apresentaram modificação significativa, mas tiveram uma modificação percentual de $\Delta\% = -27,58$, $\Delta\% = -26,65$, $\Delta\% = -36,44$, $\Delta\% = -26,44$, $\Delta\% = 31,68$, $\Delta\% = -74,67$, $\Delta\% = -23,49$, $\Delta\% = -21,27$ respectivamente. Uma sessão de exercício induziu um aumento significativo na quimiocina 6CKine/CCL21 que tem uma ação, tanto pró-inflamatória ao aumentar a invasividade, metastização e a imunossupressão tumoral, como anti-inflamatória na ativação da imunidade adaptativa. Embora não tenha sido significativo, as quimiocinas MIG/CXCL9, MCP-1/CCL2, IL8/CXCL8 apresentaram uma modificação percentual alta, que sugere uma proteção contra metástase. Futuros estudos com uma maior amostra e efeito crônico do exercício são necessários.

Palavras-chave: Neoplasias da mama. Quimiocinas. Exercício Físico.

ABSTRACT

Breast cancer is the most prevalent type and the leading cause of cancer-related deaths among women. Although its origin is multifactorial, breast cancer is considered a chronic-degenerative disease triggered by an inflammatory process, in which chemokines play an important role, contributing to cancer development and proliferation. Physical exercise, particularly combined physical training (i.e., aerobic + strength training), emerges as a potential modulator of this process, reducing the inflammatory process associated with the expression of circulating chemokines and improving the patient's clinical and physiological conditions. However, few studies to date have examined the effect of physical exercise on chemokines in breast cancer patients. To determine the effect of a single session of combined training (CT), performed before cancer treatment, on chemokines in women with breast cancer. Thirteen women with breast carcinoma of the following types: Luminal and HER2+ (9), Luminal HER2-negative (3), and triple-negative (1), aged 49 ± 5.88 , with BMI 31.7 ± 5.97 , and KI67 25.0 ± 21.3 , were recruited to participate in the study. All participants underwent one CT session consisting of a strength training protocol with 5 exercises of 8-12 repetitions maximum, followed by a high-intensity interval aerobic training protocol comprising 3 sets of 2 minutes at delta 50% and 2 minutes of active recovery (20% of VO₂max) on a cycle ergometer. Blood samples were collected before and immediately after the CT session to analyze the following chemokines and cytokines: IFN γ , IL-1 β , IL1-RA, TNF α , IL8/CXCL8, IP10/CXCL10, MCP-1/CCL2, MDC/CCL22, MIG/CXCL9, MIP-1 α /CCL33, RANTES/CCL5, 6Ckine/CCL21, CXCL16, I-TAC/CXCL11, TARC/CCL17, SDF-1/CXCL12, GCP-2/CXCL6, MIP-3 β /CCL19. A paired t-test was used to compare pre- and post-exercise chemokine and cytokine levels, and significance was set at $P < 0.05$. There was a significant increase in the concentration of the chemokine 6Ckine/CCL21, with a percentage change of $\Delta\% = 8.13$. Other key markers, such as IL-1 β , IL8/CXCL8, MCP-1/CCL2, MIG/CXCL9, IFN γ , MDC/CCL22 and MIP-1 α /CCL3, did not show significant changes but had percentage changes of $\Delta\% = -27.58$, $\Delta\% = -26.65$, $\Delta\% = -36.44$, $\Delta\% = -26.44$, and $\Delta\% = -74.67$, $\Delta\% = -23.49$, $\Delta\% = -21.27$ respectively. A single exercise session induced a significant increase in the chemokine 6Ckine/CCL21, which has both pro-inflammatory actions (enhancing invasiveness, metastasis, and tumor immunosuppression) and anti-inflammatory actions (activating adaptive immunity). Although not statistically significant, MIG/CXCL9, MCP-1/CCL2, and IL8/CXCL8 showed high percentage changes, suggesting a protective role against metastasis. Future studies with larger samples and chronic exercise effects are necessary.

Keywords: Breast neoplasms. Chemokines. Physical exercise.

LISTA DE SÍMULOS E ABREVIACÕES

- CXCL16 – *Chemokine (C-X-C motif) ligand 16*
- GCP-2/CXCL6 – *Granulocyte chemotactic protein-2 ou Chemokine (C-X-C motif) ligand 6*
- IL-1 β – *Interleucina 1beta*
- IL1-RA – *Interleukin-1 Receptor Antagonist 1*
- IL8/CXCL8 – *Interleucina-8 ou Chemokine (C-X-C motif) Ligand 8*
- IFN γ – *Interferon-gama*
- IP10/CXCL10 – *Interferon Gamma Induced Protein 10kDa*
- I-TAC/CXCL11- *Chemokine (C-X-C motif) ligand 11*
- MCP-1/CCL2 – *Monocyte Chemoattractant Protein-1 ou Chemokine (CC-motif) Ligand 2*
- MDC/CCL22 – *Macrophage-derived Chemokine ou Chemokine (CC-motif) ligand 22*
- MIG/CXCL9 – *Monokine induced by gamma interferon ou Chemokine (C-X-C motif) ligand 9*
- MIP-1 α /CCL3 – *Macrophage inflammatory protein-1 alpha ou Chemokine (C-C motif) ligand 3*
- MIP-3 β /CCL19 – *Macrophage Inflammatory Protein 3 beta ou Chemokine (C-C motif) ligand 19*
- RANTES/CCL5 – *Chemokine (CC motif) ligand 5*
- SDF-1/CXCL12 – *Stromal cell-derived factor 1 ou C-X-C motif chemokine 12*
- TARC/CCL17 – *Thymus- and activation-regulated chemokine ou Chemokine (CC-motif) ligand 17*
- TNF α – *Fator de Necrose Tumoral Alfa*
- 6CKine/CCL21 – *Chemokine (C-C motif) ligand 21*
- $\Delta\%$ – *Delta (Variação média)*

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

FIGURA 1. Mecanismos que ligam quimiocinas e seus receptores ao microambiente tumoral.	17
FIGURA 2. Delineamento experimental.....	29
FIGURA 3. Fluxo de pacientes no projeto.....	40
FIGURA 4. Média e desvio padrão das citocinas e quimiocinas circulantes inflamatórias, anti-inflamatórias e de dupla função (inflamatórias e anti-inflamatórias), nos momentos pré e pós sessão aguda de TC de treze pacientes.....	47

LISTA DE TABELAS E QUADROS

TABELA 1. Características físicas, clínicas e do tumor	41
TABELA 2. Dados de avaliação da composição corporal, da força muscular e da aptidão aeróbia.....	43
TABELA 3. Dados de Ki-67 e receptores de estrogênio e progesterona das pacientes.....	44
TABELA 4. Dados de citocinas e quimiocinas circulantes anti-inflamatórias, inflamatórias e de dupla função (inflamatórias e anti-inflamatórias), da amostra de pacientes.....	45
TABELA 5. Dados de citocinas e quimiocinas circulantes anti-inflamatórias, inflamatórias e de dupla função (inflamatórias e anti-inflamatórias) de pacientes com subtipo imunoistoquímico luminal e não luminal HER2+.....	48

SUMÁRIO

1. Introdução	14
2. Objetivos do Projeto	26
2.1 Objetivo Geral	26
2.2 Objetivos Específicos	26
4. Métodos	28
4.1. Participantes	28
4.2 Desenho Experimental	28
4.3 Coleta de material biológico	29
4.3.1 Material para histologia.....	29
4.4 Coletas de Sangue	30
4.5.1 Preparação e análise das citocinas e quimiocinas circulantes	30
4.6.1 Histologia	34
4.6.2 Preparação do material para imunoistoquímica	35
4.6.3 Detecção e interpretação dos resultados da imunoistoquímica.....	35
4.7 Composição corporal - Absorciometria de raios X de dupla energia (DXA). 36	
4.8 Avaliação da força muscular – Teste de uma repetição máxima (1-RM).....	36
4.9 Aptidão cardiorrespiratória – Teste de consumo máximo de oxigênio (VO ₂ máx)	37
5. Protocolo de Exercício.....	38
5.1 Treinamento combinado.....	38
6. Análise Estatística	38
7. Resultados.....	40
7.1 Características das pacientes	40
8. Discussão:.....	49

9. Conclusão: 55

Referências Bibliográficas

Anexo I

1. Introdução

De acordo com os dados globais sobre o câncer, o câncer de mama é o mais incidente e a principal causa de morte por câncer entre as mulheres (SUNG et al., 2021). Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), em 2023 no Brasil, foram registrados 73.610 novos casos de câncer de mama, o que corresponde a cerca de 30,1% de todos os novos casos de câncer, em mulheres. Além disso, são esperados 704 mil casos novos de câncer no Brasil para cada ano do triênio 2023-2025 (INCA. 2023). Esses dados alarmantes configuram a necessidade de investigar soluções que diminuam a incidência e melhorem o respectivo tratamento.

A maioria dos cânceres de mama diagnosticados são adenocarcinomas, surgindo nos ductos mamários e no epitélio lobular (FENG et al., 2018; INCA. 2023). A patologia ductal varia de carcinoma ductal in situ a carcinomas invasivos, que se espalharam além da membrana basal para o parênquima mamário adjacente. Adicionalmente, outras formas de câncer de mama incluem, cânceres de mama inflamatórios, carcinomas papilares e doença de Paget da mama (FENG et al., 2018). Evidências moleculares e histológicas, caracterizam o câncer de mama em três grupos; 1) câncer de mama que expressa o receptor hormonal (receptor de estrogênio ER⁺ ou receptor de progesterona PR⁺) tendo uma subcategoria de Luminal A (ER+, PR±, HER2-, Ki67 baixo) e Luminal B (ER+, PR±, HER2±, Ki67 alto), 2) câncer de mama que expressa o receptor epidérmico humano 2 (HER2⁺) (ER-, PR-, HER2+) e o grupo de câncer de mama triplo negativo (ER⁻, PR⁻, HER2⁻) (BARZAMAN et al., 2020; LEHMANN et al., 2011). Independentemente do tipo de tumor e da sua origem multifatorial, o câncer de mama se caracteriza como uma doença crônico-degenerativa, desencadeada geralmente por um processo inflamatório (DEL PRETE et al., 2011; DENK; GRETEN, 2022; GRETEN; GRIVENNIKOV, 2019; OZGA; CHOW; LUSTER, 2021).

O fato de ser uma doença inflamatória, pode gerar ainda outros problemas na mulher com câncer, piorar o prognóstico e aumentar a mortalidade (GRETEN; GRIVENNIKOV, 2019; SILVA et al., 2024; SUNG et al., 2021). Por exemplo, é conhecido que o tumor, através de um processo de hiperatividade inflamatória, pode induzir a perda de massa muscular (ARGILÉS et al., 2015; SETIAWAN et al., 2023). Além disso, sabe-se que as drogas utilizadas no tratamento quimioterápico (e.g. antraciclina), potencializam o processo inflamatório, potencializando a perda de massa muscular (BLAS et al., 2018; MAZZUCA F et al., 2018). Por sua vez, a perda de massa

muscular em pacientes com câncer está atrelada a um pior prognóstico e aumento da mortalidade (BLAS et al., 2018; MAZZUCA F et al., 2018). Em consequência da perda de massa muscular, pacientes com câncer também podem ter a sua capacidade de locomoção reduzida (ARGILÉS et al., 2015; SETIAWAN et al., 2023). Uma vez com a locomoção diminuída, o paciente com câncer poderá ter uma redução da potência aeróbica máxima, geralmente mensurada pelo consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$) (MARTIN et al., 2015; YU et al., 2020). Já foi demonstrado que a diminuição do $VO_{2máx}$ em pacientes com câncer de mama, está associada ao mal prognóstico (YU et al., 2020). Dessa forma, a inflamação induzida pelo tumor e potencializada pelo tratamento, principalmente quimioterápico, precisa ser investigada. Para que o ciclo deletério que diminui a massa muscular e potencializa consequências negativas, sejam menos agressivas.

A inflamação se apresenta como uma resposta protetora do organismo à ação de patógenos invasores ou sinais endógenos, tais como células danificadas, exclusão de células necróticas, reparo e regeneração tecidual (NETEA et al., 2017). Após detecção de problemas nas células, o processo inflamatório é desencadeado pela liberação de agentes pró inflamatórios, tais como, quimiocinas e citocinas, bem como o Fator de necrose tumoral alfa ($TNF-\alpha$) (DINARELLO, 2007; NETEA et al., 2017). À medida que a inflamação se desenvolve, o sistema imunológico desencadeia um mecanismo protetor, através de quimiocinas e citocinas anti-inflamatórias. Derivadas de células imunológicas (células T reguladoras e monócitos) para combater e eliminar os agentes estressores, e retornar a homeostase do organismo (DINARELLO et al., 2016; NETEA et al., 2017; OUYANG et al., 2011). No entanto, o processo inflamatório pode se tornar crônico se a origem da inflamação persistir ou se mecanismos de controle responsáveis por impedir o processo falharem (GRETEN; GRIVENNIKOV, 2019). Com essa falha e a inflamação se tornando crônica, podem haver mutações celulares, gerando um ambiente propício para o desenvolvimento, sobrevivência, e proliferação de um tumor (GRETEN; GRIVENNIKOV, 2019; ROXBURGH; MCMILLAN, 2014; SINGH et al., 2019).

Dentre os vários agentes inflamatórios, as citocinas e, particularmente as quimiocinas tem apresentando uma relação estreita com os tumores sólidos, incluindo o tumor de mama (MASIH et al., 2022; RAZA et al., 2022; SINGH et al., 2019; TURNER et al., 2014). As quimiocinas são pertencentes a um grupo de peptídeos de baixo peso molecular (8-10kDa) e são classificadas em quatro subfamílias: C, CC, CXC e CX3C (GUERREIRO; SANTOS-COSTA; AZEVEDO-PEREIRA, 2011; RAZA et al., 2022). Dentre essas, as que parecem ter maior relação com tumores

são as subfamílias CXC e CC, envolvidas em vários processos biológicos, quando ligada a seu respectivo receptor (DAVID; KUBES, 2019; MASIH et al., 2022; RAZA et al., 2022; SINGH et al., 2019; TURNER et al., 2014). As quimiocinas CXC são classificadas com base na ausência ou presença de uma sequência Glu-Leu-Arg (ELR + e ELR-), no seu terminal radical amido (NH₂), que é essencial para a ligação de seus respectivos receptores (GUERREIRO; SANTOS-COSTA; AZEVEDO-PEREIRA, 2011). Enquanto ELR + incluem CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8 e CXCL17, os membros ELR- correspondem às quimiocinas: CXCL4, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14 e CXCL16 (PALOMINO DC; MARTI LC., 2015; WU et al., 2022). Já a subfamília CC possui um domínio de cisteína adjacentes N-terminal, e é composto por vinte e quatro membros CCL1-CCL5, CCL7, CCL8, CCL11 e CCL13-CCL28 (GUERREIRO; SANTOS-COSTA; AZEVEDO-PEREIRA, 2011; KORBECKI et al., 2020b; PALOMINO DC; MARTI LC., 2015). Desencadeadas geralmente por estímulos patogênicos, fatores de crescimento, citocinas inflamatórias como TNF- α , interferon gama (FN- γ) e interleucina-1 (IL-1), e expressa pelos linfócitos na corrente sanguínea (WU et al., 2022; ZLOTNIK; YOSHIE, 2000). As quimiocinas são responsáveis pela migração celular (ZLOTNIK; YOSHIE, 2000), adesão, interação e posicionamento de células imunológicas no organismo (GRIFFITH; SOKOL; LUSTER, 2014).

Funcionalmente, as quimiocinas são classificadas como inflamatórias, quando induzidas por uma resposta imune em um local de infecção/lesão (OZGA; CHOW; LUSTER, 2021; PALOMINO DC; MARTI LC., 2015) e homeostáticas (e.g. tem a função de manter a homeostase) que estão envolvidas no controle da migração celular, durante o desenvolvimento ou manutenção de tecidos em todo o organismo (PALOMINO DC; MARTI LC., 2015). Quando há uma falha nessa homeostase e as células mutadas se dividem, quimiocinas das subfamílias CXC e CC, como CCL2, CCL3, CCL5, CXCL12, CCL18 em resposta ao processo inflamatório, e da quimioatração (movimentação), levam leucócitos pró tumorais para e/ou pelo microambiente tumoral, resultam no desenvolvimento do tumor (RAZA et al., 2022). Já a atividade das quimiocinas CXCL9, CXCL11, CXCL10-CXCR3 pode resultar no combate a proliferação de células tumorais (GOMES-SANTOS et al., 2021; KOHLI; PILLARISSETTY; KIM, 2022). Dada essas informações, percebem-se que as quimiocinas tem papel pró inflamatório, na qual resulta no desenvolvimento e progressão tumoral, mas também tem um papel importante na anti-inflamação, que combate o desenvolvimento e progressão tumoral (KOHLI; PILLARISSETTY; KIM, 2022; RAZA et al.,

2022). De maneira geral, essas funções acontecem devido a ação das quimiocinas em orientar a migração de células imunológicas em direção a um sítio da lesão.

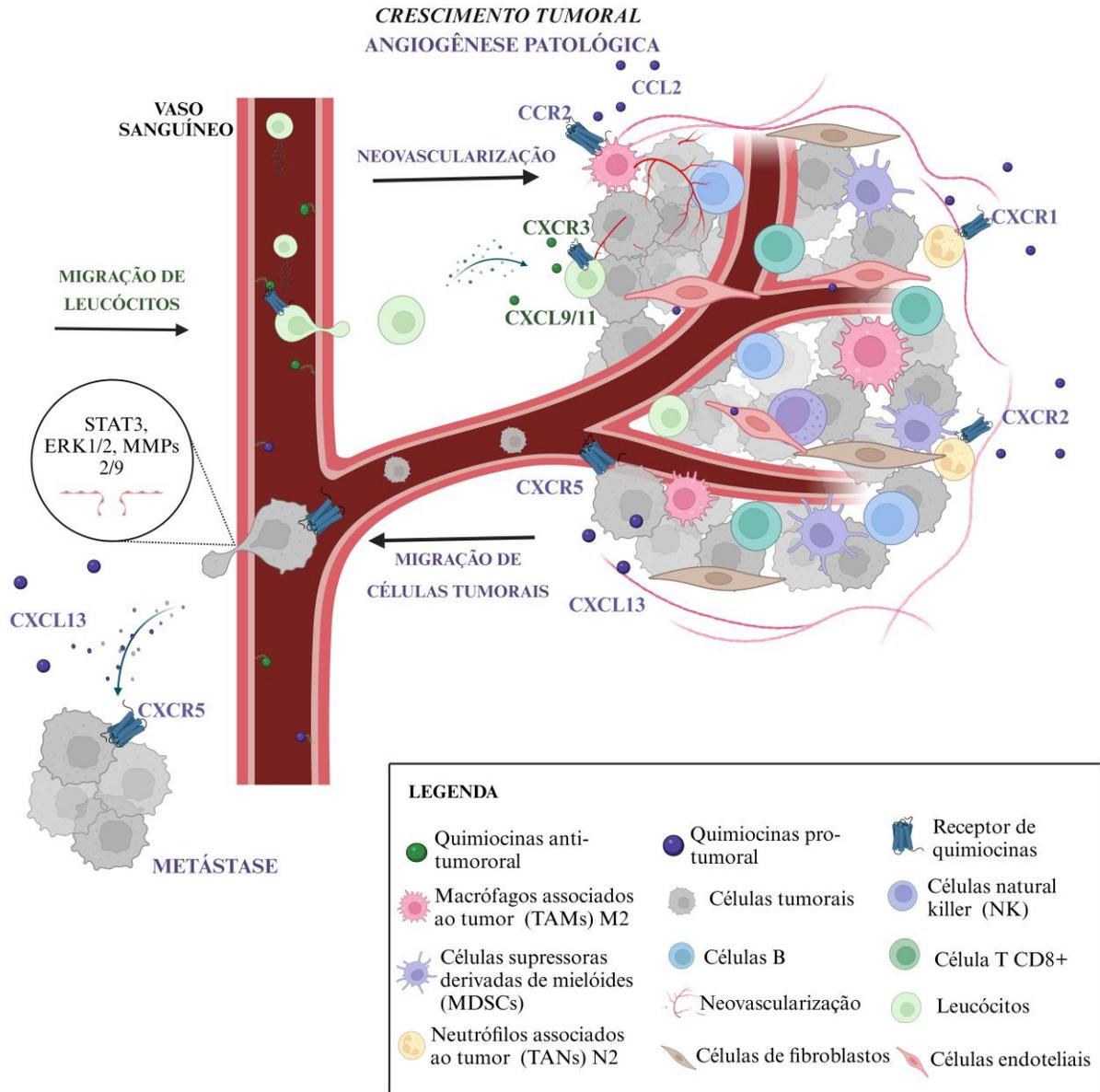


FIGURA 1. Mecanismos que ligam quimiocinas e seus receptores ao microambiente tumoral. Os tumores sólidos contêm numerosos tipos de células estromais, como as células endoteliais e os fibroblastos, que são grandes produtores de quimiocinas. Estas quimiocinas desempenham um papel crucial na regulação e migração de leucócitos tanto no leito tumoral como no microambiente tumoral (TME). A circulação de leucócitos é um processo altamente coordenado, no qual eles rodam ao longo do endotélio. As quimiocinas ligam-se aos leucócitos através dos seus receptores acoplados a proteínas, resultando numa forte adesão de leucócitos à camada endotelial. Eventualmente, os leucócitos ultrapassam o endotélio e migram para tecidos

ou células produtoras de quimiocina. Consequentemente, o tumor é infiltrado por células inflamatórias, incluindo neutrófilos, macrófagos M2, linfócitos T e células dendríticas. As quimiocinas ELR+ de CXC atraem neutrófilos (N2) associados ao tumor, expressando CXCR2 e CXCR1. Da mesma forma, as quimiocinas da subfamília CC atraem macrófagos (M2) associados ao tumor que expressam CCR1/2/3/5/8. Em contraste, algumas quimiocinas ELR-CXC, como ligantes CXCL9/10/11, atraem linfócitos T ativados por CXCR3 e células T NK e CD8+, que podem exercer atividade antitumoral (citotóxica). Em relação à produção de quimiocinas por leucócitos, as células tumorais e as células associadas ao tumor (subtipo M2 de TAMs, subtipo N2 de TANs, MDCs, Treg) têm efeitos sobre a angiogênese patológica através dos seus ligantes angiogênicos (CXCL1/2/3/5/6/7/8 - CXCR2; e agonista CXCR4 CXCL2; CCL2/7/8/13/16 -CCR2; CCL20-CCR6; CCL1/18-CCR8; CCL27/28-CCR30; CCR3). Isto desencadeia a formação de vasos intratumoral mais imaturos e hipóxico. A formação de novos vasos sanguíneos é determinante na tumorigênese, pois mantém a sobrevivência do tumor e aumenta sua proliferação, impulsionando o processo de metástase. Além disso, o eixo receptor-ligante CXCL13-CXCR5 e CXCR4-CXCL12 está envolvido na migração direcionada de células tumorais para sítios metastáticos, através da ativação de vias oncogênicas (STAT3, ERK1/2 e MMPs 2/9) que deterioram a matriz extracelular, e facilitam a fuga das células cancerosas. TME: microambiente tumoral; STAT3: transdutores de sinal e ativadores da transcrição 3 (do inglês *Signal Transducer and Activator of Transcription 3*); ERK1/2: cinases reguladas pelo sinal extracelular (do inglês *Extracellular Signal-regulated Kinases*); MMPs2/9: metaloproteinase de matriz -2 e -9 (no inglês *Matrix Metalloproteinase-2 and -9*). Criado com Biorender. Traduzido e adaptado de BUZAGLO et al., 2024.

Já foi evidenciado em trabalhos anteriores que a secreção das quimiocinas classificadas como pró-inflamatórias CCL2 e CCL3, ao recrutar macrófagos associado ao tumor do subtipo M2 (TAMs) para o microambiente tumoral, potencializaram a progressão e o mal prognóstico do carcinoma ductal in situ (BRUMMER et al., 2018; LABOVSKY et al., 2015; MASIH et al., 2022). No câncer de mama, o microambiente tumoral (TME) consiste em uma variedade heterogênea de células endoteliais, células perivasculares, fibroblastos, adipócitos, e abundante em células imunes altamente ativas (WILLIAMS; YEH; SOLOFF, 2016). Neste contexto, os macrófagos, uma das células imunes mais prevalentes nos tumores mamários, desempenham uma influência no estado imunológico dos tecidos neoplásicos (WILLIAMS; YEH; SOLOFF, 2016). Na ausência de doença e/ou do câncer, os macrófagos desempenham o papel de fagócitos preeminentes do corpo, preparados para matar e remover as células consideradas uma ameaça. Representando tanto a primeira linha de defesa, quanto a ponte que conecta os braços adaptativo e inato do sistema imunológico (WYNN; CHAWLA; POLLARD, 2013). No entanto, uma infinidade de fatores

derivados dos tumores e dos tecidos estromais presentes no TME, como por exemplo, a falha em resolver sinais imunoestimulatórios, levam à ativação prolongada e estabelecem um estado de inflamação crônica, que subvertem a função tumoricida dos macrófagos, ou seja, à capacidade de reconhecer e atacar as células neoplásicas (WILLIAMS; YEH; SOLOFF, 2016; WYNN; CHAWLA; POLLARD, 2013). Logo, à exposição a condições hipóxicas, fatores de crescimento, quimiocinas e citocinas imunossupressoras fornecidas pelo TME atribuem aos macrófagos associados a tumores (TAMs) propriedades e características dos macrófagos tróficos (WILLIAMS; YEH; SOLOFF, 2016; WYNN; CHAWLA; POLLARD, 2013). De forma que, essas características facilitam o crescimento e o reparo do tecido, que são essenciais para o desenvolvimento do TME (WILLIAMS; YEH; SOLOFF, 2016). Assim, os macrófagos e/ou suas subpopulações dentro dos tumores mamários são inadvertidamente livres para promover a crescimento tumoral.

Convencionalmente, as subpopulações dos macrófagos são descritas com, classicamente ativadas M1 que tem propriedades antitumorais e/ou tumoricida e pró-inflamatórias, ou M2 alternativamente ativadas, que é frequentemente associado à imunossupressão e ao suporte ao tumor. (ALLAVENA et al., 2008; CENDROWICZ et al., 2021; PATHRIA; LOUIS; VARNER, 2019). Em estágios iniciais da formação do tumor, os TAMs são polarizados (i.e. adoção de um estado funcional diferente em resposta a um estímulo do microambiente) pelo IFN- γ para um fenótipo M1 inflamatório caracterizado pela atividade tumoricida e pela secreção de IL-12 (MANTOVANI et al., 2002). Em estágios avançados do câncer os TAMs são recrutados para o microambiente tumoral principalmente pela quimiotaxia da CCL2 e são convertidos em um fenótipo M2 por meio de citocinas imunossupressoras derivadas de tumores, como o fator de crescimento transformador (TGF)- β (MANTOVANI; SICA, 2010). Esses TAMs são geralmente do subtipo M2, e desempenham papéis cruciais na interação entre a inflamação e o câncer, favorecendo o crescimento tumoral. Evidências indicam que a alta concentração de TAMs do subtipo M2 no microambiente tumoral, permite o crescimento/desenvolvimento de tumores (GAMBARDELLA et al., 2020). Adicionalmente foi descoberto que a densidade de TAMs se correlaciona com um prognóstico ruim em múltiplas malignidades, incluindo câncer de mama (HOLLMÉN et al., 2016). Além disso, o fenótipo M2 está intimamente associado à imunossupressão e à promoção da angiogênese patológica (PATHRIA; LOUIS; VARNER, 2019; YANG; ZHANG, 2017) Assim, os macrófagos do subtipo M2 podem facilitar o desenvolvimento da inflamação e promover o crescimento tumoral, devido sua ação pró-tumorigênica, angiogênica

e imunossupressora. (GENARD G; LUCAS S; MICHIELS C, 2017). Além da ativação de células do sistema imune, as quimiocinas também podem atuar na proliferação através da indução de fatores de crescimento e de migração para as células tumorais por diferentes vias.

YANG et al., 2019, observaram que a secreção da quimiocina CXCL1 no câncer de mama negativo para receptor estrógeno promoveu a migração e invasão celular por meio da via de sinalização da *Extracellular Signal-regulated Kinases (ERK) 1/2* / *Matrix Metalloproteinase-2 (MMP2)* / *Matrix Metalloproteinase-9 (MMP9)*. Essas por sua vez parecem estar atreladas ao desenvolvimento tumoral, por induzirem a deterioração da matriz extracelular, permitindo a disseminação e invasão tumoral (BAI et al., 2016; MIYAKE et al., 2013; WANG et al., 2017; XIONG et al., 2017), sugerindo que essa via potencializou a proliferação e sobrevivência do tumor. Adicionalmente, fibroblastos associados ao câncer (FACs) que são induzidos pelo estroma (tecido mamário), provocam a secreção de quimiocinas também ligadas a progressão cancerígena, como CXCL12 (ORIMO et al., 2005). Ao ser expressa, a CXCL12 pode aumentar o crescimento tumoral por estimulação direta do seu receptor CXCR4 expresso pelas células de carcinoma de mama humano (ORIMO et al., 2005). Já foi demonstrado que a hipersecreção da via de sinalização CXCL12, pelas células do carcinoma mamário de ratos, e de seu ligante CXCR4, facilitaram o recrutamento de macrófagos M2 ao microambiente tumoral, aumentando a invasividade do tumor *in vivo* (BOIMEL et al., 2012). Além disso, a CXCL12 parece atuar para manter a proliferação tumoral, através da angiogênese patológica, que se caracteriza por um processo de neovascularização intratumoral (ORIMO et al., 2005), que causa progressão do tumor.

Estudos anteriores demonstraram que esse fenômeno acontece devido a secreção aumentada da CXCL12, que ao ativar mediadores pró angiogênicos como fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e/ou recrutar células progenitoras endoteliais para carcinomas (EPCs). Estimulou a formação de novos vasos sanguíneos, induzindo a angiogênese patológica e a progressão no câncer de mama (LUGANO; RAMACHANDRAN; DIMBERG, 2020; ORIMO et al., 2005). Além da CXCL12, a CCL18 parece também induzir angiogênese. LIN et al., 2015 observaram que a atuação da quimiocina CCL18, expressa pelos macrófagos M2, promoveu angiogênese patológica e a progressão tumoral do câncer de mama, tanto em um experimento *in vitro* como *in vivo*. Outras quimiocinas como a CXCL1, CXCL2, CXCL6 e CXCL8 apresentam também uma maior efetividade na promoção da angiogênese, em especial no câncer de mama triplo negativo (HAN et al., 2022; LIU et al., 2020). A progressão tumoral através da angiogênese patológica, ocorre porque

os vasos produzidos pela mesma nesse processo, exibem estruturas e funções anormais. Levando à uma perfusão sanguínea intratumoral prejudicada, caracterizando um microambiente tumoral hipóxico e ácido (JAIN RK., 2014). A hipóxia e a acidose por sua vez garantem a sobrevivência das células tumorais, ao facilitar o seu escape do sistema imunológico. E aumentar seu potencial invasivo, ao induzir a produção de proteínas pró-migratórias, como por exemplo, CXCL12 e moléculas de matriz extracelular invasivas (FINGER; GIACCIA, 2010; JAIN RK., 2014; SEMENZA, 2014). Esse processo sustenta a malignidade, a agressividade e o potencial de metastização das células cancerígenas (JAIN RK., 2014). Logo, à atuação das quimiocinas na angiogênese patológica se torna problemática, à medida que se sabe que esse fenômeno está atrelado a metástase.

A secreção desregulada dessas quimiocinas também tem sido apontada como determinante nesse processo de metástase. Por realizar a migração orientada de células cancerígenas para um sítio de infecção, através da ligação de uma quimiocina e seu receptor (MÜLLER et al., 2001; ZHANG et al., 2015). Muller et al (2001), demonstraram que a secreção ativa, do receptor CXCR4 por células de câncer de mama, desencadeou a polimerização de actina e subsequente a formação de pseudópodes (projeção temporária da parede celular). Que permitiram a migração orientada e a invasão das células de câncer de mama, em direção a órgãos, como o pulmão. Que apresentavam secreção de seu ligante, à quimiocina CXCL12, sendo capaz de induzir metástase do câncer de mama. Esses achados indicam que essa interação entre uma quimiocina e seu receptor, podem ser cruciais, nesse processo de metastização no câncer de mama. Outro eixo que parece induzir metástase é a interação entre a CCL5 e o seu receptor CCR3. Já foi demonstrado que a quimiocina CCL5 ao ativar seu receptor CCR3 expresso pelas células T CD4⁺ aumentam a expressão do fator de crescimento independente -1 (Gfi1). Esse, por sua vez, induz a diferenciação das células Th2 fenótipo imunossupressor, que promove metástase pulmonar no câncer de mama Luminal (ZHANG et al., 2015). Apesar das quimiocinas induzirem um processo pró-inflamatório que facilita à proliferação do tumor e metástase, essas também podem atuar como mediadoras anticancerígenas, por meio de uma ação anti-inflamatória.

Por exemplo, já foi demonstrado que a citocinas como IFN- γ podem induzir uma ação anti-inflamatória das quimiocinas CXCL9/10 e 11 e seu receptor CXCR3 (KOHLI; PILLARISSETTY; KIM, 2022; RAZA et al., 2022; TOKUNAGA et al., 2018; YANG et al., 2006). Esse eixo parece recrutar células impulsadoras da imunidade tumoral, como células T auxiliares 1 (Th1), células

T CD8+ e células natural killer (NK). Que tem a função de atacar e destruir as células cancerosas, sugerindo que essa ação resulta na regressão do tumor (KOHLI; PILLARISSETTY; KIM, 2022; RAZA et al., 2022; TOKUNAGA et al., 2018). Visto que é possível ter uma reação imunológica anti cancerígena, à partir da ação das quimiocinas, várias estratégias, bem para a diminuição do processo inflamatório estão sendo investigadas, na tentativa de potencializar esses efeitos. Dentro dessas estratégias, o exercício físico parece ter tomado atenção especial.

A prática regular de exercício físico desencadeia uma série de adaptações sistêmicas, moleculares e celulares (HAWLEY et al., 2014; HOJMAN et al., 2018). A nível celular e molecular a literatura tem associado os efeitos do exercício físico com a redução de fatores de risco tumorais, como as quimiocinas (CLIFFORD et al., 2023; HOJMAN et al., 2018; KOELWYN et al., 2017; ZHU et al., 2022). Afim de investigar essa modulação, Esmailiyan et al., 2022, avaliaram o efeito do oito semanas de treino aeróbio não contínuo, nos níveis plasmáticos de CCL2, CCL5 e respectivos receptores; CCR2 e CCR5 em camundongos fêmeas BALB/C com câncer de mama. Quando comparado com o grupo controle (sem exercício), observou-se uma diminuição significativa, nos níveis plasmáticos de quimiocinas pró-tumorigênicos CCL2 e CCL5 e seus respectivos receptores CCR2. De maneira geral, essa redução pode estar associada a uma diminuição da inflação sistêmica, determinante no desenvolvimento do câncer de mama (ESMAILIYAN et al., 2022). Adicionalmente, Gomes-Santos, et al 2021 investigaram os efeitos do exercício aeróbio, controlando a intensidade e a duração da dose de exercício, sobre linfócitos infiltrantes tumorais (TIL) na vascularização tumoral. Como resultado, foi observado que o programa de exercícios desencadeou uma linfocitose, ou seja, um aumento significativo de células imunes CD8+ antitumoral, e sua infiltração na TME e um aumento na secreção das quimiocinas CXCL9/CXCL11-CXCR3. Por sua vez, essas quimiocinas, estão envolvidas no aumento do tráfego de células T CD8+ na circulação sanguínea para o tumor, o que resultou em um aumento na atividade antitumoral (GOMES-SANTOS et al., 2021). Quando o treinamento aeróbio é realizado, já foi demonstrado também que esse desencadeia o aumento da expressão de linfócitos na circulação sanguínea. E de secreção de anticorpos e citocinas, o que sugere a ativação do sistema imunológico induzida pelo exercício (CAMPBELL; TURNER, 2018; SCHEFFER; LATINI, 2020). Esse processo eleva o estado de imunovigilância e competência, impulsionada por uma mobilização de células para áreas mais suscetíveis (CAMPBELL; TURNER, 2018), atuando como mediador anti-inflamatório.

Além do treinamento aeróbio, o treinamento de força também parece eficiente na redução de marcadores pró-inflamatórios, e na melhora imunológica de mulheres em recuperação de câncer de mama (HAGSTROM et al., 2016; KHOSRAVI et al., 2019; MENESES-ECHÁVEZ et al., 2016; WINTERS-STONE et al., 2018). Já foi demonstrado que o treinamento de força (TF), realizado durante dezesseis semanas por mulheres em recuperação de câncer de mama. Induziu uma redução significativa na secreção TNF- α , nas células NK e das células T assassinas naturais (NKT) em comparação ao grupo controle, sugerindo uma melhora no perfil inflamatório dessas mulheres (HAGSTROM et al., 2016). Adicionalmente, também tem sido demonstrando que, sessões agudas de exercício físico, desencadeiam uma ativação e uma mobilização significativa de células imunológicas na circulação sanguínea. Capazes de realizar ações anti-inflamatórias, mediadas pelas quimiocinas (BIGLEY et al., 2014; PEDERSEN BK; HOFFMAN-GOETZ L., 2000). Ações estas, que partem da indução do esforço de cisalhamento, desencadeado em resposta aos mecanismos citados acima. E que, quando associado a uma liberação significativa de adrenalina, desencadeia um processo chamado linfocitose, ou seja, um aumento de linfócitos. Que por sua vez, secretam quimiocinas, anticorpos e citocinas, dentre elas IFN- γ na corrente sanguínea (CAMPBELL; TURNER, 2018; SCHEFFER; LATINI, 2020), aumentando a reatividade imunológica. Dessa forma o exercício físico, particularmente o treinamento aeróbio (TA) e o treinamento de força (TF) podem ser considerados um tipo de intervenção, capaz de ativar mecanismos imunológicos, para potencializar o sistema de defesa. Através, da diminuição do processo inflamatório e da mobilização celular induzida pelas quimiocinas em direção ao microambiente tumoral, afim de reduzir a agressividade do tumor. Além disso, a realização de exercício físico também pode orquestrar outras maneiras de neutralizar a agressividade e progressão do tumor.

O esforço de cisalhamento induzido pelo exercício também estimula adaptações fisiológicas no microambiente tumoral, como a dilatação e maturação da vasculatura intratumoral. Isso é evidenciado pelo aumento da cobertura de pericitos em microvasos (BETOF et al., 2015), juntamente com a temperatura corporal elevada durante o exercício (BURD et al., 1998; HAWLEY et al., 2014). Consequentemente, induzem um aumento na perfusão tumoral, na oxigenação e redução da hipóxia intratumoral (BETOF et al., 2015; ESTEVES; MONTEIRO; DUARTE, 2021; FLOREZ BEDOYA et al., 2019; KOELWYN et al., 2017). Alguns estudos mostraram, que a hipóxia é um dos fatores associados à supressão das respostas imunes antitumorais (PIETROBON;

MARINCOLA, 2021). Por reprogramar diretamente as células imunes para um fenótipo pró-tumoral (PALAZON et al., 2017), modulando os eixos de sinalização das quimiocinas (SUN et al., 2010; TEJCHMAN et al., 2017), e inibindo a citotoxicidade das células imunes (SETHUMADHAVAN et al., 2017). Corroborando com isso, Pedersen et al., observaram que tumores de camundongos fisicamente treinados apresentam baixos níveis de hipóxia e uma alta secreção de CCL3 e CXCL10. Quimiocinas, ligadas à ativação de quimiotaxia de células imunes, como às células NK (PEDERSEN et al., 2016), para o microambiente tumoral, a fim de reprogramar a imunidade tumoral. Outra evidência positiva induzida pelo exercício físico foi observada pelo estudo McCullough, et al. 2014. Neste estudo, apenas uma sessão de exercício físico, realizada por ratos com tumor de próstata, foi capaz de aumentar até 200% do fluxo sanguíneo no tumor, com um aumento significativo na liberação de oxigênio. Esses fatos foram eficientes para diminuir aproximadamente 15% da hipóxia em áreas tumorais (MCCULLOUGH et al., 2014). Associado à esta melhora na vasculatura tumoral causada pela redução da hipóxia, há também uma redução na produção do fator alfa-1 induzido por hipóxia (HIF1a). Por sua vez, a menor expressão de HIF-1, induz a diminuição da secreção dos mediadores de uma série de genes envolvidos na angiogênese patológica, como a quimiocina CXCL12 (DEWAN et al., 2006; DU et al., 2008; HITCHON et al., 2002), que potencializa a sobrevivência e proliferação tumoral (DEWAN et al., 2006; PIETROBON; MARINCOLA, 2021). Assim, sugere-se que o exercício físico pode reduzir a angiogênese patológica, com consequente indução de hipóxia inferior, melhorando a função de agentes antitumorais como as vias de sinalização de quimiocinas. Além de seu papel na ativação do sistema imunológico, por meio da redução do processo inflamatório e mobilização celular por intermédio das quimiocinas. Esses fatores podem estar associados também a diminuição da proteína nuclear Ki67, liberada durante a divisão e proliferação celular nos tumores de mama (ZHANG et al., 2021). Marcador ligado à uma maior taxa de crescimento tumoral e, a um comportamento mais agressivo do câncer, além de um risco elevado de metástase. Dessa forma, níveis mais baixos de Ki-67 estão relacionados a um crescimento tumoral mais lento e um prognóstico positivo (ZHANG et al., 2021).

Logo a realização do TF realizado em conjunto com o TA, chamado de treinamento combinado (TC), além de poder influenciar positivamente o processo inflamatório, tem se mostrado efetivo na melhorar da funcionalidade física em pacientes com câncer (COURNEYA et al., 2007), determinante para o prognóstico positivo. Especificamente, tem sido demonstrado que

o TF, quando realizado de moderada-alta intensidade (70-85% de uma repetição máxima (1-RM)), aumenta a força e a massa muscular, enquanto TA tem pouco ou nenhum efeito sobre essas variáveis (BELL et al., 2000). Por outro lado, o treinamento aeróbio de moderada-alta intensidade ($\geq 65\%$ do consumo máximo de oxigênio [$VO_{2m\acute{a}x}$]) apresenta-se muito mais efetivo para aumentar a aptidão aeróbia que o TF (BELL et al., 2000). Por exemplo, em mulheres com câncer de mama, Courneya et al., (2007), separaram pacientes em um grupo que realizou TF e outro que realizou TA e demonstraram que o TF foi mais eficiente que o TA para aumentar força muscular do que o TA, e somente o TF demonstrou ser efetivo para aumentar a massa muscular. Por outro lado, o grupo TA foi mais efetivo que o grupo TF para aumentar o $VO_{2m\acute{a}x}$. Os dados desse estudo sugerem então que, mulheres com câncer de mama realizem TF e TA para evitar que ocorra diminuição na massa muscular e na aptidão aeróbia, tão importantes para o prognóstico dessas pacientes (COURNEYA et al., 2007). Considerando que o aumento da força, da massa muscular e da aptidão aeróbia são inversamente relacionadas com risco cardiovascular, morbidade e mortalidade (KIM; CHANG; KONG, 2017; MIJWEL et al., 2018), a realização do TF e do TA em uma mesma sessão, denominado de TC, tem sido apontado como uma estratégia não farmacológica para melhorar a saúde e a qualidade de vida da mulher com câncer de mama. Tendo em vista que o tumor desencadeia um aumento na inflamação que se potencializa quando associado ao tratamento à base de quimioterapia, iniciando um ciclo de perda de massa muscular que culmina em outros malefícios a saúde. A realização de TC antes do tratamento oncológico pode ser considerada uma estratégia promissora que poderá facilitar uma melhora no prognóstico da mulher com câncer de mama (DE PAULO et al., 2019; JONES et al., 2007).

Embora existam informações científicas acerca da temática, nenhum estudo até o presente momento investigou o efeito do exercício físico sobre as quimiocinas em pacientes com câncer de mama. É importante salientar que o presente estudo se destaca pelo ineditismo e originalidade, pois vai investigar o efeito do exercício físico nas quimiocinas de pacientes com câncer de mama antes de começarem o tratamento. Assim, o objetivo deste estudo é investigar o efeito de uma sessão de treinamento combinado, realizado antes do tratamento oncológico na secreção e regulação das quimiocinas, em pacientes com câncer de mama. Como hipótese, entende-se que o TC irá induzir uma diminuição de citocinas inflamatórias como TNF- α , diminuindo conseqüentemente quimiocinas pró-inflamatórias e aumentando a secreção de quimiocinas anti-inflamatórias.

2. Objetivos

2.2 Objetivo Geral

Determinar o efeito de uma sessão de treinamento combinado (TC), realizado antes do tratamento oncológico, nas quimiocinas em mulheres diagnosticadas com câncer de mama.

2.3 Objetivos Específicos

1) Avaliar a concentração plasmática de um conjunto de citocinas e quimiocinas inflamatórias como CCL2 e TNF- α antes e após uma sessão de TC realizado por mulheres com câncer de mama no período pré-tratamento.

2) Avaliar a concentração plasmática de um conjunto de quimiocinas anti-inflamatórias como MIG/CXCL9 antes e após uma sessão de TC realizado por mulheres com câncer de mama no período pré-tratamento

3. Hipóteses:

- A realização de uma sessão de TC irá induzir diminuição de citocinas inflamatórias como TNF- α e CCL2, reduzindo, conseqüentemente, a indução de gradientes de quimiocinas pró tumorigênicos;
- A realização de uma sessão de TC antes do tratamento irá induzir um aumento na secreção de quimiocinas anti-inflamatórias, como MIG/CXCL9.

4. Métodos

Este estudo foi realizado na janela de oportunidade (após o diagnóstico e antes do início do tratamento), conduzido pelo nosso laboratório, o Centro de Estudos em Exercício e Oncologia.

4.1. Participantes

Treze mulheres com carcinoma de mama e que deram entrada nos ambulatórios de mastologia e de oncologia clínica do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM), uma das unidades hospitalares da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), participaram desse estudo. Para participar do estudo, as mulheres tinham que ser diagnosticadas com câncer de mama, com idade acima de 18 anos e classificadas nos estágios da doença de I a III. Não foram incluídas no estudo mulheres que: 1) estivessem envolvidas em algum programa sistematizado de treinamento físico há pelo menos 6 meses; 2) se autodeclarassem incapazes de realizar exercícios físicos; 3) apresentassem contraindicação médica para exercícios físicos; 4) não possuísem condições clínicas para o tratamento; 5) sofressem de neuropatia. Os critérios de descontinuação foram: 1) ausência em consultas, avaliações e sessões de treino; 2) progressão da doença com metástases ósseas e/ou cerebrais. Após a triagem inicial, as pacientes foram completamente informadas sobre os procedimentos envolvidos no estudo e convidadas a assinar um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), formalizando sua participação na pesquisa. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp sob o número: 6.436.383. A participação no estudo não interferiu no desenvolvimento do tratamento e acompanhamento das pacientes no serviço de mastologia e oncologia clínica do serviço.

4.2 Desenho Experimental

Uma vez estabelecido o diagnóstico após biópsia de tecido tumoral, as mulheres diagnosticadas com câncer de mama e que receberam indicação para tratamentos específicos, como cirurgia *up front* ou quimioterapia (seja neoadjuvante ou adjuvante), foram convidadas a participar do estudo. Aceitando a participação, uma amostra do tecido mamário retirado na biópsia é destinada a análise de Ki67 e receptores hormonais. Posteriormente, essas mulheres realizaram as familiarizações com as seguintes avaliações: 1) força muscular por meio do teste de uma repetição máxima (1-RM) e capacidade cardiorrespiratória por meio do teste direto de $VO_{2máx}$. Em outro dia,

essas mulheres realizaram as seguintes avaliações: 1) composição corporal por absorciometria de raios X de dupla energia (DXA); 2) capacidade cardiorrespiratória por meio do teste direto de $VO_{2máx}$ atrelado ao eletrocardiograma de esforço. Seguindo essas avaliações iniciais, essas mulheres voltaram em outro dia e inicialmente passaram por uma coleta de sangue basal para análises moleculares, seguida por uma sessão aguda de TC, e outra coleta de sangue imediatamente após o fim da sessão de exercícios. É importante destacar que o teste de 1-RM foi realizado como primeiro exercício, parte do protocolo de treinamento de força, na sessão de treinamento combinado realizado pela paciente. Figura 2 proporciona uma visão geral do delineamento experimental.

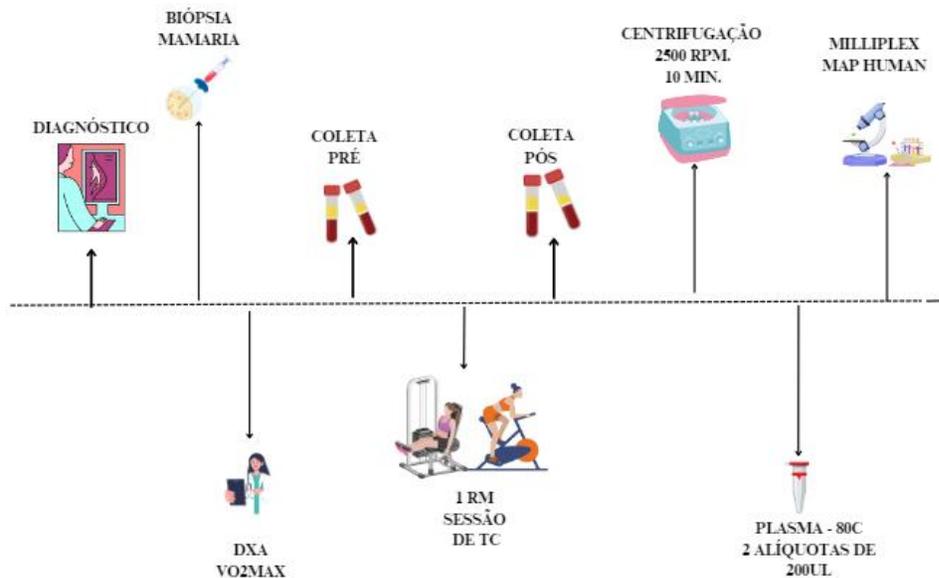


FIGURA 2. Visão geral do delineamento experimental.

4.3 Coleta de material biológico

4.3.1 Material para histologia

O material biológico destinado à histologia é obtido a partir de biópsias oncológicas ou peças cirúrgicas resultantes de procedimentos como mastectomias ou quadrantectomias, seguindo os protocolos padrão já estabelecidos pelo Caism-Unicamp de maneira rotineira. Inicialmente,

mulheres com nódulos ou imagens mamárias sugestivas de malignidade, submetidas a biópsias de fragmentos sob orientação ultrassonográfica e realizadas por equipe médica do Caism, foram convidadas a participar da coleta de material para diagnóstico e parafina, e para o biobanco após leitura e assinatura do TCLE.

A autorização para o desenvolvimento do projeto com a utilização do biobanco está documentada no **ANEXO I**. Para armazenamento e processamento do material biológico, a amostra é encaminhada ao LAPE – Caism/Unicamp, sob a supervisão do patologista responsável.

4.4 Coletas de Sangue

As participantes do estudo foram orientadas a sempre comparecer as sessões de coleta sanguíneas bem hidratadas e alimentadas. Dois tubos de 4mL contendo EDTA foram obtidas da veia antecubital antes e após a primeira sessão de TC.

4.5.1 Preparação e análise das citocinas e quimiocinas circulantes

Após a coleta do sangue, as amostras foram separadas em alíquotas com processamento do plasma ocorrendo no mesmo dia, o mais rápido possível após a coleta. As amostras foram centrifugadas a 2500rpm por 10 min e separadas em 2 alíquotas de 200ul de plasma de cada tubo e armazenadas -80°C até as análises de quimiocinas.

A concentração de citocinas e quimiocinas circulantes foram analisadas em duplicata, pelo método *MILLIPLEX MAP Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Painel A Magnetic Bead Panel (96 Plex) (MilliporeSigma)* com 11 analitos, dentre eles IFN γ , IL-1 β , IL1-RA, TNF α , IL8/CXCL8, IP10/CXCL10, MCP-1/CCL2, MDC/CCL22, MIG/CXCL9, MIP-1 α /CCL3, RANTES/CCL5. Já os analitos 6Ckine/CCL21, CXCL16, I-TAC/CXCL11, TARC/CCL17, SDF-1/CXCL12, GCP-2/CXCL6, MIP-3 β /CCL19, foram analisados no *MILLIPLEX MAP Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Painel B Magnetic Bead Panel (96 Plex) (MilliporeSigma)*, seguindo as recomendações do fabricante.

No dia da análise as amostras de plasma foram descongeladas completamente e levadas ao vórtex por 5 min para posterior análise.

4.5.1.1 Preparação de reagentes para imuno ensaio Painel A e B:

Os reagentes foram aquecidos a temperatura ambiente (20-25 °C) antes do uso por 30min. Posteriormente os frascos foram sonicados de forma individual por 30seg, seguido de um banho

maria ultrassônico, e colocados no vórtex por 1min antes do uso. Pra cada frasco individual dos 7 reagentes da placa B foram adicionados 60ul de cada anticorpo ao frasco de mistura, resultando em um volume de 420ul. Já para cada frasco individual dos 10 reagentes que foram analisados na placa A, também foram adicionados 60ul de cada anticorpo ao frasco de mistura, resultando no volume de 420ul.

4.5.1.2 Preparação do Controle de Qualidade Painel A e B:

Foi realizada uma reconstituição do controle de qualidade 1 e 2 de ambas as placas com 250ul de água desionizada. Posteriormente os frascos foram investidos várias vezes para misturar e levados ao vórtex por 30seg e seguidos de um descaso por 10 min. Os controles reconstituídos foram transferidos para 4 tubos de microfuga de polipropileno e armazenados até o uso.

4.5.1.3 Preparação do *Wash Buffer* (tampão de lavagem), Painel A e B:

Diluímos 60mL de *Wash buffer* com 540 mL de água desionizada, da placa A e posteriormente da placa B resultando em um volume de 600ml de *Wash Buffer* (tampão de lavagem) para cada placa, reservando-os para uso.

4.5.1.4 Preparação do Sêrum Matriz, Painel A e B:

Adicionamos 1mL de água desionizada ao frasco contendo o sêrum matriz liofilizado da placa A e 1mL de água desionizada ao frasco contendo o sêrum matriz liofilizado da placa B. Passando posteriormente por uma agitação manual de 5min e um descanso de 10min para reconstituição completa, para posterior uso.

4.5.1.5 Preparação do *Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel A Standard*.

Reconstituímos o *Standard* (padrão) do painel A, adicionando 250ul de água desionizada no frasco invertendo o frasco várias vezes para misturar, colocando-o posteriormente no vórtex por 10 segundos, e levando ao descanso por 10 minutos. Depois realizamos a transferência do padrão reconstituído para um tubo de microfuga de polipropileno para uso. Esse padrão reconstituído foi usado como Padrão 7. Posteriormente etiquetamos 6 tubos de microfuga de polipropileno Padrão 1 a Padrão 6, para iniciar os padrões de trabalho. Após a organização dos padrões foi adicionado 200uL de Buffer de Ensaio a cada um dos 6 tubos para iniciar a diluição em série. Foi adicionando 50uL do padrão reconstituído ao tubo Padrão 6, passando por uma agitação manual e transferido 50uL do Padrão 6 para o tubo Padrão 5, passando por uma agitação manual e transferido 50uL do

Padrão 5 para o tubo Padrão 4, passando por uma agitação manual e transferido 50uL do Padrão 4 para o tubo Padrão 3, passando por uma agitação manual e transferido 50uL do Padrão 3 para o tubo Padrão 2, passando por uma agitação manual e transferido 50uL do Padrão 2 para o tubo Padrão 1 agitando manualmente. E o padrão de 0 pg/mL (Fundo) foi o *Assay Buffer*, prontos para uso.

4.5.1.6 Preparação do *Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel B Standard*.

Antes de usar, reconstruímos os *Standard* do Painel B adicionando 250uL de água deionizada invertendo o frasco várias vezes para misturar, colocando-o posteriormente no vórtex por 10 segundos e levando ao descanso por 10 minutos. Depois realizamos a transferência do padrão reconstituído para um tubo de microfuga de polipropileno para uso. Esse padrão reconstituído foi usado como o Padrão 7. Posteriormente etiquetamos 6 tubos de microfuga de polipropileno Padrão 1 a Padrão 6, para iniciar os padrões de trabalho. Após a organização dos padrões foi adicionado 150uL de Buffer de Ensaio a cada um dos 6 tubos para iniciar a diluição em série. Foi adicionado 50u L do padrão reconstituído para o tubo Padrão 6, passando por uma agitação manual e transferido 50uL do Padrão 6 para o tubo Padrão 5, passando por uma agitação manual e transferido 50uL do Padrão 5 para o tubo Padrão 4, passando por uma agitação manual e transferido 50uL do Padrão 4 para o tubo Padrão 3 passando por uma agitação manual e transferido 50uL do Padrão 3 para o tubo Padrão 2, passando por uma agitação manual e transferido 50uL do Padrão 2 para o tubo Padrão 1 agitando manualmente. E o padrão de 0 pg/mL (Fundo) foi o *Assay Buffer*, prontos para uso.

4.5.1.7 Produção do Imunoensaio:

As placas foram organizadas de acordo como posicionamento dos padrões de 0 a 7, controles 1 e 2, e amostras no mapa de distribuição das placas de 96 poços cada, com configuração vertical e colocadas a temperatura ambiente por 30min antes de iniciar o ensaio.

Foi adicionado 200uL de *Wash Buffer* (tampão de lavagem) em cada poço das placas A e B, selando ambas com o selar de placas e levamos -as um agitador de micro placas MA 562 por 10 minutos à temperatura ambiente (20-25 °C). Decantamos o tampão de lavagem, removendo a quantidade residual de todos os poços invertendo as placas e batendo-as suavemente em toalhas absorventes. As placas foram alocadas em um ímã portátil de descanso (Cat. Não. 40-285) por 60 segundos para permitir o assentamento completo das beads magnéticas. Seguido da remoção do

conteúdo do poço decantando suavemente as placas em um receptáculo de resíduos apropriado e batendo-as suavemente nas almofadas absorventes para remover o líquido residual. Prosseguindo com a lavagem da placa, com 200uL de *Wash Buffer* removendo a placa do ímã, adicionando *Wash Buffer*, agitando por 30 segundos, recolocando ao ímã, deixando as *Beads* assentar por 60 segundos e removendo o conteúdo do poço conforme descrito anteriormente após cada lavagem, de cada placa por 3 vezes seguidas.

Após o processo de lavagem foi adicionado 25u L de cada *Standard* (padrão) 7 a 0 e Controle 1 e 2 nos poços apropriados de ambas as placas. O *Assay Buffer* (tampão de ensaio) foi usado para o padrão de 0 pg/mL (Fundo). Pós alocar os controles e padrões em seus poços, apropriado. Foi adicionado 25uL de *Assay Buffer* da placa A aos poços de todas as amostras da placa A e adicionado 25uL de *Assay Buffer* da placa B aos poços de todas as amostras da placa B. Adicionando em seguida 25uL de solução de matriz apropriada de cada placa ao fundo, nos padrões e poços de controles da placa A e B. Após a preparação inicial de ambas as placas para receber as amostras de plasma, foi adicionado 25uL de plasma em duplicata, ou seja, 50ul de cada paciente do seu momento pré e 50ul do seu momento pós intervenção, nos poços apropriados seguindo o mapa de identificação das amostras, em ambas as placas. Posteriormente foi adicionado 25ul de *Beads* (cotas de mistura ou pré-misturas) a cada poço da placa A e da placa B com sua respectiva *Beads*, agitando as *Beads* antes da adição para evitar sedimentação. Após os procedimentos de lavagem, preparação das placas e alocação das amostras de plasma e de *Beads*, as placas A e B foram seladas com os seladores de placa, e enroladas com papel alumínio e incubadas com agitação em um agitador de pratos durante a noite por 18 horas a 2-8 °C. Visto que a incubação noturna pode melhorar a sensibilidade do ensaio para alguns analitos.

No dia seguinte, após 18h de incubação, os seladores de placa foram removidos para o processo de remoção do conteúdo dos poços e lavagem das A e B. As placas foram alocadas em um ímã portátil de descanso (Cat. Não. 40-285) por 60 segundos para permitir o assentamento completo das beads magnéticas. Seguido da remoção do conteúdo do poço decantando suavemente as placas em um receptáculo de resíduos apropriado e batendo-as suavemente nas almofadas absorventes para remover o líquido residual. Prosseguindo com a lavagem da placa, com 200uL de *Wash Buffer* removendo a placa do ímã, adicionando *Wash Buffer*, agitando por 30 segundos, recolocando ao ímã, deixando as *Beads* assentar por 60 segundos e removendo o conteúdo do poço conforme descrito anteriormente após cada lavagem, de cada placa por 3 vezes seguidas. Após todo

o ciclo de lavagem de ambas as placas, foi adicionado 25uL de Anticorpos de Detecção aquecido a temperatura ambiente, em cada poço. Selando-as posteriormente com os seladores de placa e envolvendo-as com papel alumínio e as incubando com agitação um agitador de micro placas MA 562 por 1 hora à temperatura ambiente (20-25 °C).

Após incubação foi adicionado 25uL de *Streptavidin-Phycoerythin* a cada poço de ambas as placas contendo os 25uL de Anticorpos de Detecção. Selando-as com o selador de placas, as envolvendo em papel alumínio e incubando-as novamente no agitador de micro placas MA 562 por 30 minutos à temperatura ambiente (20-25 °C). Em seguida foram removidos os conteúdos dos poços através da lavagem. As placas foram alocadas novamente em um ímã portátil de descanso (Cat. Não. 40-285) por 60 segundos para permitir o assentamento completo das *beads* magnéticas. Seguido da remoção do conteúdo do poço decantando suavemente as placas em um receptáculo de resíduos apropriado e batendo-as suavemente nas almofadas absorventes para remover o líquido residual. Prosseguindo com a lavagem da placa, com 200uL de *Wash Buffer* removendo a placa do ímã, adicionando *Wash Buffer*, agitando por 30 segundos, recolocando ao ímã, deixando as *beads* assentar por 60 segundos e removendo o conteúdo do poço conforme descrito anteriormente após cada lavagem, de cada placa por 3 vezes seguidas.

Após o último ciclo de lavagem, foi adicionado 150uL de *Sheath Fluid PLUS* (Fluido de Bainha PLUS) em todos os poços da placa A e B. Ressuspendendo as *Beads* de ambas as placas no agitador de micro placas MA 562 por 5 minutos. Por fim as placas foram lidas no instrumento *Luminex® 200™ MAGPIX®* com o software *XPONENT®* no mesmo dia. Foram salvos e analisados os dados da Intensidade Fluorescente Média (MFI) usando um método de ajuste de curva logística para calcular as concentrações dos analitos nas amostras.

4.6 Avaliações Secundárias

4.6.1 Histologia

O material biológico coletado, proveniente de biópsias oncológicas ou de peças cirúrgicas obtidas por mastectomia ou quadrantectomia, foi fixado em formalina tamponada e incluído em parafina. Posteriormente, as lâminas coradas com hematoxilina e eosina foram revisadas pelo patologista responsável no Caism.

4.6.2 Preparação do material para imunoistoquímica

O processo de preparação das lâminas seguiu as seguintes etapas: as lâminas foram hidratadas em álcool etílico em concentrações decrescentes (100, 80 e 50%) e lavadas com água destilada corrente. A atividade da peroxidase endógena é bloqueada com três banhos, cada um com duração de 3 minutos, em água oxigenada a 10 volumes, seguidos de lavagem em água corrente e destilada.

Para recuperação antigênica, foi utilizado o sistema de panela a vapor Pascal Dako, com o objetivo de "desmascarar" os antígenos. As lâminas foram imersas em tampão citrato de sódio pH 6,0 (10 mM) a 95°C durante 30 minutos, seguidas por resfriamento em temperatura ambiente por 20 minutos e lavagem em água corrente e destilada. Após essa etapa, os cortes histológicos foram incubados em câmara úmida com anticorpo primário específico (Ki67: clone MIB-1, Dako) nas diluições preconizadas pelo fabricante, a 4°C, overnight.

Após a incubação, as lâminas foram lavadas três vezes em solução salina tamponada com fosfato pH 7,4 a 7,6 (PBS), sob agitação e secadas. Como sistema de detecção, as lâminas foram incubadas com ADVANCE™ HRP Detection System (Dako) a 37°C durante uma hora e, em seguida, submetidas a três lavagens em PBS sob agitação. A revelação é realizada com substrato cromogênico DAB (3'-diaminobenzidina, SIGMA, código D5637) a 37 °C durante 5 minutos. Finalmente, as lâminas foram lavadas em água corrente e contra-coradas com hematoxilina de Harris por 30 a 60 segundos. Os cortes foram desidratados em banhos de álcool etílico em concentrações crescentes, diafanizados em três banhos de xilol, e, em seguida, montadas em lamínula e resina (Entellan). Controles internos e externos positivos e negativos serão utilizados para validar as reações.

4.6.3 Detecção e interpretação dos resultados da imunoistoquímica

Para a análise do Ki67, é contada a porcentagem de núcleos corados com intensidade moderada e forte. Os cortes parafinizados com 4 µm de espessura são analisados utilizando o protocolo para sondas Kreatech®.

Os cortes foram desparafinizados em xilol e desidratados em uma série de álcoois, sendo deixados para secar em temperatura ambiente. Posteriormente, os cortes foram incubados em pepsina 0,008% e lavados em tampão PBS. Em seguida, foram incubados em formaldeído e lavados novamente em PBS. Após esse procedimento, os cortes foram incubados em proteinase K

0,25 mg/mL e lavados duas vezes em SSC. Posteriormente, os cortes foram desidratados em uma série de álcoois e deixados secar em temperatura ambiente.

Em seguida, os cortes foram desnaturados em formamida a 70% e desidratados novamente em uma série de álcoois. É aplicado o corante DAPI (0,3 µg/mL, Vectashield) nas áreas selecionadas para a contra coloração dos núcleos.

4.7 Composição corporal - Absorciometria de raios X de dupla energia (DXA)

A composição corporal foi avaliada por DXA usando-se equipamento GE Lunar DPX-NT, Lunar, Madison, WI, USA. Essa avaliação foi realizada procedendo à varredura total do corpo da paciente, com exposição a dois diferentes níveis de energia, 70 e 140 kilovolts (GENTON et al., 2002), seguindo as recomendações da Sociedade Internacional de Densitometria Clínica (International Society for Clinical Densitometry – ISCD) (LEWIECKI et al., 2008a, 2008b).

4.8 Avaliação da força muscular – Teste de uma repetição máxima (1-RM)

A força muscular foi avaliada por meio do teste de uma repetição máxima (1-RM) seguindo as descrições da ASEP (Brown & Weir, 2001). O teste foi realizado no exercício no Leg Press horizontal (EDGE, Movement, Pompeia, São Paulo, Brasil). Antes do teste é realizada uma sessão de familiarização, na qual as posições dos pés e a amplitude de 90° de flexão dos joelhos são estabelecidas e anotadas para cada participante para garantir o mesmo posicionamento nos testes posteriores. Antes dos testes, as participantes realizam um aquecimento geral de cinco minutos na bicicleta ergométrica e posteriormente, um aquecimento específico que consiste em uma série de 10 repetições a 50% de 1-RM estimado e uma série de três repetições a 70% de 1-RM estimado.

Após o aquecimento específico, um intervalo de três minutos é concedido, antes de as pacientes se submeterem ao teste. O teste foi realizado com o intuito de obter a máxima quantidade de peso que a participante consegue levantar em um ciclo completo (flexão-extensão da articulação dos joelhos, amplitude total de 90°). O número total de tentativas para determinar o valor de 1-RM em cada teste, não é maior que cinco. Entre as tentativas houve um intervalo de três minutos. Durante a execução do movimento o avaliador fornece encorajamento verbal.

4.9 Aptidão cardiorrespiratória – Teste de consumo máximo de oxigênio ($\text{VO}_{2\text{máx}}$)

Para avaliação da aptidão aeróbia as participantes realizaram um teste incremental em uma bicicleta ergométrica para membros inferiores (CG-04, Inbramed, Porto Alegre, Brasil). O protocolo tem a carga inicial de 10W com aumento de 10W a cada minuto até a exaustão voluntária da participante ou até que a participante não consiga manter a cadência de 60-75 rpm por mais que cinco segundos (CONCEIÇÃO et al., 2019). Ao final de cada estágio, as participantes informavam a percepção subjetiva de esforço (BORG, 1970). Durante todo o teste as participantes tiveram a ventilação e as trocas gasosas (respiração a respiração) coletadas por meio de um sistema metabólico de análise de gases (Quark CPET, Cosmed, Roma, Itália). A partir desse teste foram identificados os marcadores de capacidade e de potência aeróbia que são utilizados tanto para avaliar a efetividade do programa de treinamento na aptidão aeróbia assim como para a prescrição da intensidade do treinamento aeróbio.

Para tanto, é considerado como marcador de capacidade aeróbia o ponto de compensação respiratória (PCR), que é identificado como a carga correspondente a quebra na linearidade da relação entre ventilação e produção de dióxido de carbono (VCO_2) (BEAVER et al., 1986; MEYER et al., 2004; SIMON et al., 1983). Essa identificação foi realizada de forma independente por dois avaliadores experientes, em caso de discordância um terceiro avaliador sempre era consultado. Como marcador da potência aeróbia foi utilizado o consumo de oxigênio pico ($\dot{\text{V}}\text{O}_{2\text{pico}}$) e a potência aeróbia máxima (PAM). O $\dot{\text{V}}\text{O}_{2\text{pico}}$ é considerado a maior média de 30 segundos (valores médios a cada segundo) medido ao final do teste. A determinação da PAM é considerada a potência máxima atingida no teste, quando a participante não finalizar o estágio de um minuto, a potência é relativizada de acordo com o tempo de permanência no estágio ($\text{PAM} = \text{potência no último estágio} + (15 \text{ watts} \times \text{tempo no último estágio} / 60 \text{ segundos})$). Para assegurar que as voluntárias realizaram esforço máximo no teste, são adotados pelo menos dois dos três critérios a seguir: (1) razão de trocas respiratórias maior que 1,0; (2) frequência cardíaca máxima ($\text{FC}_{\text{máx}}$) maior que 90% do máximo predito para a idade (HOWLEY; BASSETT; WELCH, 1995); (3) percepção subjetiva de esforço maior ou igual a 16. Além disso, ao longo de todo o teste, a saúde cardiovascular da paciente é monitorada através de um eletrocardiograma acompanhado por um médico responsável.

5. Protocolo de Exercício

5.1 Treinamento combinado

A prescrição do protocolo de TC está embasada nas diretrizes do American College Sports Medicine (“ACSM’s Guidelines for Exercise Testing and Prescription”, [s.d.]). A sessão de exercício iniciava com um aquecimento de 5 minutos na bicicleta ergométrica, com intensidade correspondente a 40% da velocidade do $VO_{2máx}$. Logo em seguida, foi executado o protocolo de TF com cinco exercícios (leg press, supino reto, cadeira extensora para extensão de joelho, puxador dorsal e flexão de joelho na cadeira flexora).

As participantes realizaram de três a quatro séries, com oito a doze repetições, mantendo um intervalo de dois minutos entre as séries. A carga foi progressivamente aumentada em 5% sempre que a voluntária conseguia completar as três séries com 12 repetições, ou mais, em qualquer exercício.

Logo após o TF, as participantes realizavam o TA na bicicleta ergométrica. Inicialmente, as participantes realizavam um aquecimento de cinco minutos a 50% do PCR. Em seguida, o TA consistiu em completar três séries de dois minutos realizados no Delta 50% (é acrescida à carga da potência aeróbia máxima 50% do valor da diferença da carga entre a potência aeróbia máxima e o PCR; aproximadamente 90% do $VO_{2máx}$), com intervalo de dois minutos de recuperação ativa (20% do PCR). Após a última série, é realizado cinco minutos de relaxamento a uma intensidade de 20% do PCR.

6. Análise Estatística

Para verificar a normalidade dos dados em cada variável dependente, foi utilizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Após a detecção das características não normais, utilizamos o teste não paramétrico de Wilcoxon com intuito de comparar cada citocina/quimiocina pré e pós a sessão de treinamento para todas as pacientes. Na tentativa de homogeneizar a amostra, realizamos também uma comparação pré e pós sessão de exercício apenas com nove pacientes, todas de um tipo de tumor (Luminal e não luminal HER2+). Foi adotado o valor de significância de $P < 0,05$ e os dados das variáveis dependentes principais são apresentados como mediana e amplitude interquartil e percentual de modificação entre pré e pós através de seguinte fórmula: Delta

percentual= (pós-pré)/pré*100. A característica da amostra é apresentada em média e desvio padrão. Essas análises foram conduzidas com o SPSS versão 24.0 (SPSS).

7. Resultados

Uma vez iniciada a coleta de dados, absolutamente todas as novas pacientes que deram entrada no ambulatório de oncologia do CAISM foram triadas para possível participação no estudo. Sendo assim, durante o período de mestrado, passaram pelo ambulatório 615 pacientes, sendo que 121, apesar de atender aos critérios de inclusão, apresentaram indisponibilidade para realizar o projeto, sendo excluídas. Outros 494 casos apresentaram critérios de exclusão. É importante salientar que, entre 494 casos excluídos, 35 foram indicadas para cirurgia *up front* e 14 tabagistas, haviam sido excluídas, pois as alterações no comitê de ética em pesquisa (CEP) ainda não haviam sido aprovadas. Após essas alterações, as pacientes que tinham indicação de cirurgia *up front* e tabagistas foram incluídas. Dessa forma 13 pacientes foram incluídas no projeto e realizaram as avaliações e uma sessão de TC. A figura 2 detalha o fluxo de pacientes na pesquisa.

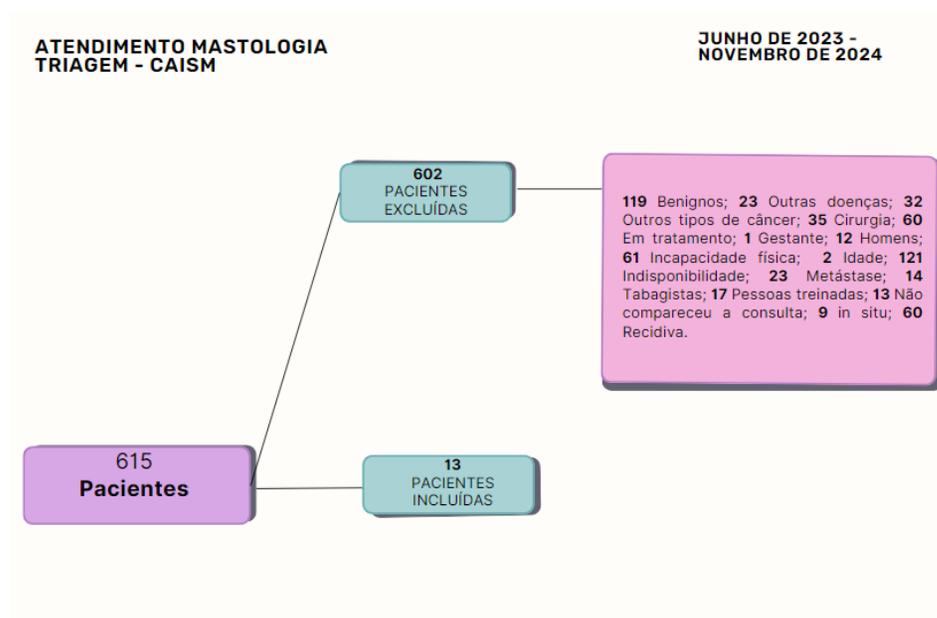


FIGURA 2. Fluxo de pacientes no projeto.

7.1 Características das pacientes

Treze pacientes participaram do estudo e os registros médicos das pacientes foram revisados para análise das características físicas, sociodemográficas e do tumor. A tabela 1 apresenta as características das pacientes participantes. Nessa tabela, observa-se que as pacientes possuem

obesidade (Grau I, IMC= 31,7) e são adultas jovens. Três pacientes eram fumantes, e seis estavam na menopausa. 12 pacientes tinham Carcinoma ductal invasivo e uma paciente possuía Carcinoma lobular invasivo. Três pacientes apresentaram tumor luminal HER2 negativo, nove pacientes apresentaram luminal e não luminal HER2+ e uma paciente apresentou tumor triplo-negativo. Oito pacientes não apresentaram linfonodos positivos, enquanto as outras 5 apresentaram um ou mais linfonodos positivos. Nenhuma paciente apresentou metástase.

TABELA 1. Características físicas (média±DP), clínicas e do tumor das pacientes incluídas no estudo.

Variáveis	N 13
Peso (Kg)	80,5±14,46
Altura (m)	1,60±5,02
IMC (Kg/m)	31,7±5,97
Idade (anos)	49±5,88
Tabaco	
Sim	3
Não	10
Estado Menstrual	
Menopausa	6
Menacme	7
Tipo Histológico	
Carcinoma ductal invasivo	12
Carcinoma lobular invasivo	1
Grau histológico	
Escore 1	1
Escore 2	10
Escore 3	2

TABELA 1. Características físicas (média±DP), clínicas e do tumor das pacientes incluídas no estudo.*Conclusão*

Variáveis	N 13
Subtipo imunoistoquímico	
Luminal HER2 negativo	3
Luminal e não luminal HER2+	9
Triplo negativo	1
Estagio da doença	
Tumor primário (T)v	
T1	3
T1c	3
T2	6
T4d	1
Linfonodos Regionais (N)	
N0	8
N1	3
N2	1
N3	1
Metástase a distância (M)	
M0	0

Escore2 (10% a 75% da área tumoral formando estruturas glandulares / tubulares); Escore3 (<10% da área tumoral formando estruturas glandulares / tubulares). T1= tumor tem até 2cm de diâmetro; T2= tumor tem entre 2cm e 5cm de diâmetro; T3= tumor tem mais de 5cm; T4 (Inclui T4a, T4b, T4c e T4d) = tumor de qualquer tamanho e invadiu o tórax ou a pele, inclui o câncer de mama inflamatório. N0= linfonodos próximos estão livre; N1= tumor se disseminou para 1 ou 3 linfonodos axilares e/ou mamários internos; N2= tumor se disseminou para 4 ou 9 linfonodos axilares ou para linfonodos mamários internos; N3 (Inclui N3a, N3b, N3c): N3a= O tumor se disseminou para 10 ou mais linfonodos axilares, com pelo menos uma área de câncer disseminada maior que 2mm; ou, o tumor se disseminou para os linfonodos infraclaviculares com pelo menos uma área de câncer maior que 2mm; N3b= o tumor é encontrado em pelo menos um linfonodo axilar com pelo menos uma área de disseminação de câncer maior que 2mm e aumentou os linfonodos mamários internos; ou o tumor se disseminou para 4 ou mais linfonodos axilares com pelo menos uma área de disseminação maior que 2mm e pequenas quantidades são encontradas nos linfonodos mamários internos; N3c= O tumor se disseminou para os linfonodos claviculares, com pelo menos uma área maior do que 2 mm. M0= ausência de metástase a distância.

A tabela 2 apresenta os dados das características de composição corporal e condicionamento físico de pacientes incluídas no estudo. Foi observado que as pacientes possuem um percentual de gordura de 44,3%, sendo, portando, considerado obesidade. O teste de força muscular, 1-RM, revelou uma média de 96,36kg. Em relação as variáveis de aptidão aeróbia, foi observado que a amostra apresentou um consumo máximo de oxigênio foi 20,64 mL.kg⁻¹.min⁻¹, a potência no teste de consumo máximo de oxigênio foi de 102,31, a potência no ponto de compensação respiratório foi de 77,69 watts, e o tempo de teste foi de 9:40 minutos.

TABELA 2. Média e desvio padrão (média±DP) dos dados de avaliação da composição corporal, da força muscular e da aptidão aeróbia das pacientes incluídas no estudo.

Variáveis (N=13)	Média (±DP)
% Gordura	44,3 (±7,85)
Massa corporal total (Kg)	78,7 (±14,2)
Massa Livre de gordura (Kg)	44,1 (±4,2)
1-RM (Kg)	96,36 (±24,1)
VO ₂ máx(mL.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	20,64 (±3,02)
PAM	102,31 (±23,14)
PCR (watts)	77,69 (±16,90)
T-teste (min:seg)	9:40 (±1:48)

% Gordura = percentual de tecido de gordura corporal; 1RM(Kg)= Teste de uma repetição máxima; VO₂máx= Consumo máximo de oxigênio; PAM= Potência aeróbica máxima; PCR= Ponto de compensação respiratória; T-teste= minutos de duração do teste.

Os dados apresentados na tabela 3 referem-se as características do tumor, (%) de Ki67, (%) receptores de estrogênio e (%) progesterona das pacientes incluídas no estudo com efeito agudo. Para Ki67 foi observada uma média de 25, receptores de estrogênio 90 e receptores de progesterona 80.

TABELA 3. Média e desvio padrão (média±DP) dos dados de Ki-67 e receptores de estrogênio e progesterona das pacientes do estudo.

N=13	Média±DP
KI67 (%)	25,0 (±21,3)
Receptor de estrogênio	90 (±17,3)
Receptor de progesterona	80 (±33,1)

N= número de pacientes

Os dados apresentados na tabela 4, referem-se as concentrações de citocinas e quimiocinas inflamatórias, homeostáticas e com dupla função (inflamatórias e anti-inflamatórias). Em relação as citocinas e quimiocinas IL-1 β , GCP-2/CXCL6 e, MIP-1 α /CCL3, que são pró-inflamatórias, não foi observado uma diferença significativa no momento pós, apesar de termos observado uma modificação percentual com a intervenção ($\Delta\%$ = -27,58, 19,30 e -21,27, respectivamente). Em relação a IL1-RA, classificada como anti-inflamatória, apesar de não ter sofrido uma modificação significativa no momento pós TC comparado ao momento pré foi possível observar uma diminuição percentual após a intervenção com o TC ($\Delta\%$ -26,44). Em relação a concentração MIP-3 β /CCL19, considerada de dupla função, não foi observado uma diferença significativa no momento pós em relação ao momento pré, apesar do aumento percentual observado ($\Delta\%$ = 1,33). Outras quimiocinas como MDC/CCL22, TARC/CCL17, CXCL16, que apresentam característica de dupla função, também não sofreram modificações significantes no momento pós TC em relação ao momento pré. Porém, foi notório a redução dos marcadores MDC/CCL22 e CXCL16 pós o TC ($\Delta\%$ = -23,49, -7,86, respectivamente), além de um ligeiro aumento do marcador TARC/CCL17, após a intervenção de TC ($\Delta\%$ = 14,56).

TABELA 4. Mediana, amplitude interquartil e o delta percentual (variação média) entre pré e pós dos dados de citocinas e quimiocinas anti-inflamatórias, pró inflamatórias e de dupla função, das treze pacientes.

N=13	Pré	Pós	Delta ($\Delta\%$)	P
	Mediana (AIQ)	Mediana (AIQ)		
Anti-inflamatórias				
IL-1RA	10,46 (5,76)	7,69 (3,75)	-26,44	0,484
Inflamatórias				
GCP-2/CXCL6	30,56 (31,18)	36,46 (32,05)	19,30	0,249
MIP-1 α /CCL3	9,57 (17,23)	7,53 (23,77)	-21,27	1,000
IL-1 β	3,67 (2,98)	2,66 (6,42)	-27,58	0,735
Dupla Função				
TARC/CCL17	17,09(50,81)	19,58 (11,22)	14,56	0,249
MIP-3 β /CCL19	117,92 (52,90)	119,92 (67,76)	1,33	0,241
CXCL16	1064,80 (632,25)	981,09 (649,45)	-7,86	0,221
MDC/CCL22	601,82 (246,77)	460,44 (128,39)	-23,49	0,878

N= número de pacientes.

A figura 3 apresenta os dados da concentração das citocinas e quimiocinas circulantes inflamatórias, anti-inflamatórias e de dupla função. A Figura 3A mostra que a concentração da IL8/CXCL8 (inflamatória) no momento pós TC (0,68 (0,231)), não foi significativamente diferente ($p=0,441$) em relação a concentração observada no momento pré TC (0,92(1,140), $\Delta\% = -26,65$). A figura 3B apresenta que a concentração IFN- γ (inflamatória) no momento pós TC (15,44 (21,64)), não foi significativamente diferente ($p=0,953$) em relação a concentração observada no momento pré TC (3,76 (23,35), $\Delta\% = 310,50$). A figura 3C, mostra que a concentração da IP-10/CXCL10 (dupla função), no momento pós TC (143,87(103,37)), não foi significativamente diferente ($p=0,241$) em relação a concentração observada no momento pré TC (148,74 (214,89),

$\Delta\% = -3,27$). A concentração de MCP-1/CCL2 (inflamatória), na figura 3D no momento pós TC (92,97(58,09)), não foi significativamente diferente ($p=0,508$), em relação a concentração observada no momento pré TC (72,96 (69,88), $\Delta\% = 27,43$). A figura 3E, demonstra que a concentração da TNF- α (inflamatória) no momento pós TC (7,09 (6,88)), não foi significativamente diferente ($p=0,333$), em relação ao momento pré TC (5,22 (7,83)). Entretanto, pudemos observar um aumento percentual deste marcador pós o TC ($\Delta\% = 35,82$). A concentração da I-TAC/CXCL11 (dupla função) representado na figura 3F, demonstrou que no momento pós TC (59,16 (57,98)), não foi significativamente diferente ($p=0,807$), em relação a concentração observada no momento pré TC (48,39 (98,66)), apesar de uma modificação percentual de $\Delta\% = 22,24$. A figura 3G, demonstra que a concentração SDF-1/CXCL12 (inflamatória), no momento pós TC (3788,83 (1191,49)), não foi significativamente diferente ($p=0,861$) em relação a concentração observada no momento pré TC (4045,01 (903,10)). Contudo, pudemos observar a redução deste marcador pós o TC ($\Delta\% = -6,33$). A figura 3H, mostra que a concentração da MIG/CXCL9 (anti-inflamatória), no momento pós TC (2005,12 (1592,32)), não foi significativamente diferente ($p=0,241$) em relação a concentração observada no momento pré TC (3065,26 (2148,95)), apesar de uma redução percentual grande ($\Delta\% = -34,58$). A figura 3I, mostra que a concentração da 6CKine/CCL21 (dupla função), no momento pós TC (568,21 (714,53)), pode-se observar um aumento ($p=0,028$) em relação a concentração observada no momento pré TC (525,47 (569,13), $\Delta\% = 8,13$).

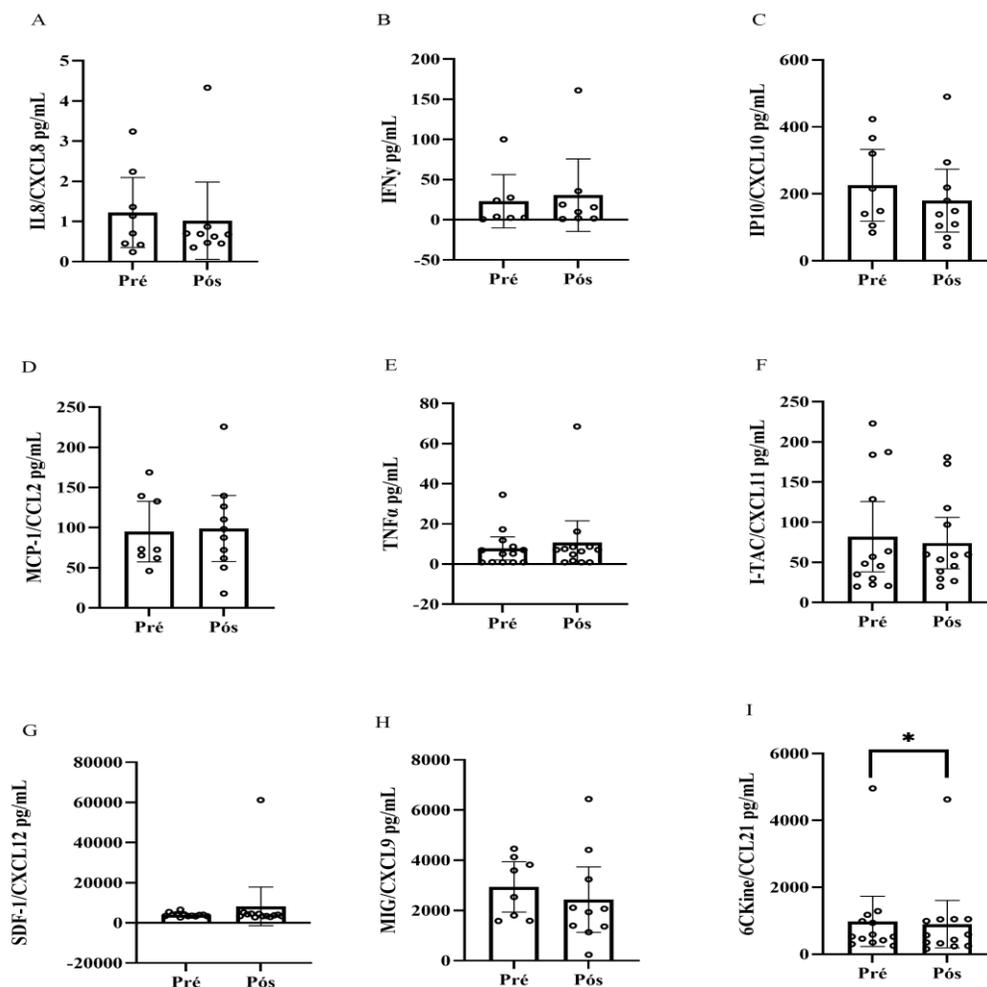


FIGURA 3. Mediana e amplitude interquartil das citocinas e quimiocinas circulantes inflamatórias, anti-inflamatórias e de dupla função (inflamatórias e anti-inflamatórias), nos momentos pré e pós sessão aguda de TC de treze pacientes.

Na tentativa de tornar a amostra menos heterogênea, analisamos os resultados das citocinas e quimiocinas de nove pacientes que possuem o mesmo tipo de tumor (luminal e não luminal HER2+). Apesar da tentativa, nenhuma alteração significativa foi observada para as citocinas e quimiocinas IL-1 β , GCP-2/CXCL6 e, MIP-1 α /CCL3, que são inflamatórias, no momento pós em relação ao pré, embora uma diminuição percentual da concentração das citocinas e quimiocinas IL-1 β e GCP-2/CXCL6 no momento pós TC ($\Delta\%$ = -26,09 e -11,98, respectivamente), e aumento no percentual da concentração da quimiocinas MIP-1 α /CCL3 no momento pós TC ($\Delta\%$ = 30,57),

tenha acontecido. Outros marcadores, como TNF α , IFN- γ , MCP-1/CCL2, IL8/CXCL8 e SDF-1/CXCL12, que são inflamatórias, não apresentaram modificação significativa no momento pós em relação ao pré. Contudo, é possível notar uma diminuição percentual das concentrações das citocinas e quimiocinas TNF α , IFN- γ , MCP-1/CCL2 e SDF-1/CXCL12 com a intervenção com o exercício ($\Delta\%$ = -4,70, -74,67, -36,44 e -5,54). Já IL8/CXCL8 se manteve estável pós TC ($\Delta\%$ = 0). Nos marcadores anti-inflamatórios, IL-1RA e MIG/CXCL9 não apresentaram modificação significativa com o exercício ($\Delta\%$ = -1,49, $\Delta\%$ = -31,68, respectivamente). Entre as quimiocinas de dupla função, IP10/CXCL10, MIP-3 β /CCL19 e 6CKINE/CCL21, não foi observado uma diferença significativa no momento pós em relação ao pré. Entretanto, apesar de não ser significativa, é possível observar que houve um aumento percentual das concentrações das quimiocinas IP10/CXCL10 e 6CKINE/CCL21 no momento pós TC ($\Delta\%$ =32,59 e 10,78), além de uma diminuição percentual na concentração MIP-3 β /CCL19 após TC ($\Delta\%$ = -2,97). Nas quimiocinas ITAC/CXCL11, CXCL16, MDC/CCL22 e TARC/CCL17, que são de dupla função, também não foi observado uma diferença significativa no momento pós em relação ao pré. Contudo, apesar de não ser significativa, é possível observar que houve um aumento percentual da concentração das quimiocinas ITAC/CXCL11, MDC/CCL22 e TARC/CCL17 no momento pós TC ($\Delta\%$ = 6,40, 33,98 e 9,30), além de uma diminuição no percentual da concentração da quimiocinas CXCL16 no momento pós TC ($\Delta\%$ = -8,66).

TABELA 5. Mediana, amplitude interquartil e o delta (variação média) entre pré e pós e valor de p, dos dados de citocinas e quimiocinas circulantes anti-inflamatórias, pró inflamatórias e de dupla função (inflamatórias e anti-inflamatórias) de nove pacientes com mesmo subtipo imunoistoquímico (luminal e não luminal HER2+).

<i>Continua</i>				
N=9	Pré Mediana (AIQ)	Pós Mediana (AIQ)	Delta ($\Delta\%$)	P
Anti-inflamatórias				
IL-1RA	11,05 (6,10)	10,89 (8,34)	-1,49	0,866

TABELA 5. Mediana, amplitude interquartil e o delta (variação média) entre pré e pós e valor de p, dos dados de citocinas e quimiocinas circulantes anti-inflamatórias, pró inflamatórias e de dupla função (inflamatórias e anti-inflamatórias) de nove pacientes com mesmo subtipo imunoistoquímico (luminal e não luminal HER2+).

N= 9	<i>Conclusão</i>			
	Pré Mediana (AIQ)	Pós Mediana (AIQ)	Delta ($\Delta\%$)	P
Anti-inflamatórias				
MIG/CXCL9	1925,43 (847,19)	2535,48 (1612,36)	31,68	0,612
Inflamatórias				
IL-1 β	6,4 (6,20)	4,73 (3,73)	-26,09	0,463
TNF α	7,44 (12,09)	7,09 (3,65)	-4,70	0,575
IFN- γ	24,07 (55,91)	6,09 (75,43)	-74,67	0,600
MIP-1 α /CCL3	8,03 (7,13)	10,48 (6,7)	30,57	0,753
GCP-2/CXCL6	34,72 (46,07)	30,56 (28,54)	-11,98	0,678
IL8/CXCL8	0,71 (1,29)	0,71 (0,35)	0	0,310
MCP-1/CCL2	115,37 (51,83)	73,33 (64,64)	-36,44	0,735
SDF-1/CXCL12	3742,06 (1047,8)	3534,74(799,59)	-5,54	0,86
Dupla Função				
ITAC/CXCL11	50,46 (60,73)	53,69 (37,02)	6,40	0,859
TARC/CCL17	20,63 (10,67)	22,55 (23,89)	9,30	0,678
MDC/CCL22	485,33 (117,54)	650,27 (326,54)	33,98	0,499
IP10/CXCL10	182,25 (135,59)	241,67 (221,13)	32,59	0,499
MIP-3 β /CCL19	121,53 (22,0)	117,92 (28,43)	-2,97	0,767
6CKINE/CCL21	418,3 (264,56)	463,42 (643,87)	10,78	0,767
CXCL16	1442,46 (961,77)	1317,41 (1009,22)	-8,66	0,110

N= número de pacientes.

8. Discussão:

O presente estudo teve como objetivo investigar o efeito de uma sessão de TC, realizado antes do tratamento oncológico, na secreção e regulação das citocinas e quimiocinas, em pacientes com câncer de mama. Foi hipotetizado que o TC poderia induzir uma diminuição de citocinas inflamatórias como TNF- α , reduzindo, conseqüentemente quimiocinas pró-inflamatórias e aumentando a secreção de quimiocinas anti-inflamatórias. Nesse sentido, esse estudo confirmou de maneira parcial a hipótese. Como principal achado, foi demonstrado que a quimiocina CCL21, considerada de dupla função, apresentou um aumento da sua concentração de maneira significativa. Além disso, apesar de não ter sido observado uma alteração estatisticamente significativa, é possível sugerir que quimiocinas anti inflamatórias, bem como a MIG/CXCL9, apresentaram maior concentração após a realização de uma sessão de TC. Com isso, é possível sugerir que a realização de várias sessões de exercício físico, podem ocasionar uma modificação do perfil inflamatório, diminuindo a pró inflamação de pacientes com câncer de mama, quando um protocolo de exercício físico for realizado antes do tratamento, induzindo um potencial efeito protetor nessas pacientes.

As quimiocinas pró-inflamatórias desempenham papel crucial no microambiente tumoral, promovendo inflamação, recrutamento de células imunes e, potencialmente, contribuindo para o crescimento e progressão do tumor de mama. Entre os marcadores avaliados, a 6CKine/CCL21 (dupla função) apresentou resultados distintos quando analisada com a amostra completa de 13 pacientes e com o grupo reduzido de 9 pacientes com tumores do mesmo subtipo (luminal e não luminal HER2+). Na análise com 13 pacientes, houve um aumento significativo da concentração de 6CKine/CCL21 no momento pós TC, enquanto na análise com 9 pacientes, o aumento percentual foi semelhante, mas perdeu significância estatística. Essa diferença pode ser atribuída ao maior tamanho amostral no primeiro caso, o que aumentou o poder estatístico.

Na análise com nove pacientes com o mesmo tipo de tumor, apesar da homogeneidade do subtipo tumoral, a variabilidade nos dados permaneceu alta, dificultando a detecção de significância. A 6CKine/CCL21 é uma quimiocina que pode contribuir para a progressão tumoral ao facilitar a migração de células dendríticas e linfócitos para locais de inflamação ou linfonodos, promovendo um estado inflamatório crônico, favorável ao crescimento do tumor e à evasão imunológica. Além disso 6CKine/CCL21 apresenta uma relação estreita com a metástase linfática. Esse processo ocorre por meio da ligação de 6CKine/CCL21 ao receptor CCR7, causando a

estimulação da polimerização de actina intracelular, facilitando a disseminação de células tumorais para os linfonodos e promovendo a formação de novos vasos linfáticos no microambiente tumoral (RIZEQ; MALKI, 2020). Esse mecanismo de linfangiogênese causado pelo tumor ajuda a criar caminhos para que as células cancerígenas migrem para locais distantes, aumentando o risco de metástase. Além disso, foi demonstrado recentemente que o eixo CCL21/CCR7 está envolvido na imunogenicidade e migração de células tumorais, sendo um fator significativo na progressão da doença e um alvo potencial para intervenções terapêuticas em câncer que utilizam vias linfáticas para disseminação (CHEN et al., 2020). Dessa forma o aumento da CCL21 observado no momento pós-TC pode ser considerado desfavorável, uma vez que altos níveis de CCL21 estão associados à manutenção de um microambiente tumoral imunossupressor e pró-tumorigênico. Contudo, vale ressaltar que os dados foram apresentados em mediana, devido a distribuição não normal do conjunto de dados. Se os dados apresentassem distribuição normal e analisássemos a média do conjunto de dados, poderíamos observar uma redução da concentração no momento pós exercício. Essa redução evidenciada após uma sessão aguda de exercício, sugere que a o TC pode atenuar processos inflamatórios e reduzir a sinalização pró-metastática, uma vez que o 6CKine/CCL21 está associado à disseminação de células tumorais através do sistema linfático. Ao reduzir o nível de 6CKine/CCL21, o exercício contribui para diminuir a capacidade de invasão e metastização das células cancerígenas, proporcionando uma melhoria potencial no prognóstico e aumentando a qualidade de vida dos pacientes. Nesse sentido, é plausível sugerir a verificação da concentração de outras citocinas/quimiocinas para uma conclusão mais assertiva.

Em relação às demais citocinas e quimiocinas que apresentam características estreitamente pró-inflamatórias analisadas, embora nenhuma tenha apresentado resultados estatisticamente significantes, algumas tendências podem ser destacadas. Por exemplo, a redução percentual na concentração de IL-1 β conhecida pela promoção da inflamação crônica associada ao microambiente tumoral, mostrou redução nas análises com 13 e com 9 pacientes, o que pode ser considerado positivo, pois níveis elevados desta citocina estão relacionados ao aumento da invasividade tumoral (APTE; VORONOV, 2017; MOREIN et al., 2021; RUBINSTEIN-ACHIASAF et al., 2021). Já a GCP-2/CXCL6 apresentou um aumento percentual na análise geral (13 pacientes) e redução no grupo menor, sendo esta última uma tendência progressista, já que está quimiocina está envolvida na quimiotaxia de neutrófilos e na angiogênese (DAI et al., 2023), processos que sustentam o crescimento tumoral. Olhando apenas para a análise com 9 pacientes,

essas mudanças podem ser consideradas benéficas, pois esses marcadores estão associados à amplificação da inflamação e ao suporte ao microambiente tumoral. Embora as alterações observadas não sejam significativas, elas indicam potenciais efeitos da intervenção que merecem atenção em estudos futuros. Estudos sugerem que a redução de citocinas e quimiocinas inflamatórias crônicas pode reduzir a progressão tumoral (CLIFFORD et al., 2023; KOELWYN et al., 2015; MENESES-ECHÁVEZ et al., 2016), o que pode otimizar a resposta ao tratamento oncológico. Esses efeitos duais — ativação e modulação da resposta imune — refletem a capacidade do exercício combinado de ajustar o sistema imunológico de acordo com as necessidades do organismo, promovendo tanto a defesa contra o câncer quanto a regulação da inflamação crônica. Isso é especialmente relevante no contexto pré-tratamento, pois um sistema imunológico equilibrado pode melhorar a resposta aos tratamentos oncológicos subsequentes de modo particular o tratamento quimioterápico.

Por outro lado, o aumento de marcadores como MIP-1 α /CCL3 (9 pacientes) e TNF- α (13 pacientes) sugere uma tendência desfavorável, considerando seus papéis na progressão do tumor e na regulação da inflamação crônica (CRUCERIU et al., 2020; KORBECKI et al., 2020a). Esses achados, ainda que sem significância estatística, sugerem que mesmo pequenas alterações nos níveis de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias podem afetar o microambiente tumoral e ambientalmente impactante no curso da doença, principalmente pelos seus efeitos duais. A MCP-1/CCL2, importante para o recrutamento de macrófagos associados ao tumor (MANTOVANI; SICA, 2010; YOSHIMURA et al., 2023), mostrou um aumento significativo em 13 pacientes e uma redução expressiva no grupo luminal e não luminal HER2+. Esse comportamento sugere que a diminuição nos níveis de MCP-1/CCL2 pode ser benéfica ao reduzir o influxo de macrófagos pró-tumorais, os quais podem favorecer a progressão tumoral por meio de remodelação tecidual e supressão imunológica. Por outro lado, o aumento observado em 13 pacientes poderia favorecer a angiogênese e promover um ambiente tumoral mais permissivo, sendo, portanto, uma alteração pró tumoral.

Entre as citocinas e quimiocinas IL-1RA e MIG/CXCL9, que possuem propriedades anti-inflamatórias, obtivemos respostas distintas nas análises com 13 e 9 pacientes. Em ambas as situações a IL-1RA mostrou uma redução percentual. A IL-1RA é conhecida por atuar como antagonista do receptor de IL-1 β , diminuindo a inflamação crônica associada ao microambiente tumoral (ZHANG; VEERAMACHANENI, 2022). Assim, a redução observada, especialmente no

grupo de 13 pacientes, pode ser prejudicial, já que níveis mais baixos de citocina podem limitar a regulação da inflamação pró-tumoral. Por outro lado, o MIG/CXCL9 apresentou um comportamento oposto, com aumento percentual no grupo de 9 pacientes em comparação à redução observada no grupo maior. A MIG/CXCL9 desempenha um papel duplo no tumor, promovendo o recrutamento de células imunológicas, como linfócitos T, e modulando a resposta imunológica contra o tumor. MIG/CXCL9 é produzida principalmente em resposta ao interferon-gama (IFN- γ) e serve como um quimioatraente para linfócitos T ativados, especialmente células T citotóxicas CD8+, que são cruciais para a imunidade antitumoral mama (GOMES-SANTOS et al., 2021; SANTANA-HERNÁNDEZ et al., 2024). O aumento de sua concentração no subtipo tumoral (HER2+ luminal e não luminal), pode ser considerado benéfico, pois potencializa a atividade antitumoral, melhorando o recrutamento de células efetoras para combater o tumor. Essas respostas regulatórias podem ser especialmente relevantes, considerando o papel das citocinas e quimiocinas na inflamação sistêmica associada ao câncer de mama. Em contrapartida, sua redução no grupo de 13 pacientes com subtipos tumorais variados pode ser interpretada como prejudicial, limitando a imunovigilância antitumoral. O comportamento divergente entre os grupos ressalta a importância de considerar o tamanho amostral e a heterogeneidade tumoral ao interpretar os dados.

Por fim, no que se refere as implicações clínicas, os nossos resultados indicam que a sessão de TC promoveu uma resposta inflamatória complexa, potencialmente benéfica para pacientes com câncer de mama, antes do início do tratamento oncológico. A prática de TC pode ser uma ferramenta valiosa para preparar o organismo para os desafios imunológicos e físicos impostos pelos tratamentos de câncer, ajudando a manter a saúde muscular e a modular a inflamação sistêmica. Uma limitação importante do estudo é o pequeno tamanho da amostra (N=13), o que pode ter influenciado a obtenção de significância estatística em algumas variáveis. Outro ponto importante seria a adoção de coletas programadas dentro das 72 horas que o exercício físico estimula adaptações agudas (NIEMAN; WENTZ, 2019; SIMPSON et al., 2015), e não só imediatamente após a sessão de TC. Uma vez que a coleta realizada no presente estudo foi imediatamente após a sessão de exercício, o pico de produção de determinadas citocinas/quimiocinas, pode ter sido negligenciado. Além disso, os efeitos observados após uma única sessão de TC podem não representar o impacto de um protocolo de treinamento contínuo, o que sugere a necessidade de estudos de longo prazo para compreender o efeito cumulativo do exercício combinado na saúde geral e no perfil inflamatório dessas pacientes. Apesar das fraquezas

metodológicas, nosso estudo foi o primeiro a demonstrar o efeito de uma sessão de TC realizado antes do início do tratamento, onde não há fatores que confundam possam extrapolar resultados, bem como as drogas utilizadas no tratamento oncológico.

9. Conclusão

Esse estudo investigou a resposta de uma série de citocinas/quimiocinas após a realização de uma sessão de TC em mulheres com câncer de mama e, com isso, encontrou que, considerando a distribuição de dados não normal, apenas a quimiocina 6CKine/CCL21, considerada pró-inflamatória, teve um aumento significativo pós exercício. Embora outras citocinas/quimiocinas não tenham apresentado uma alteração estatisticamente significativa, é plausível sugerir, baseado na alteração percentual, que o exercício físico pode causar uma redução importante na concentração das quimiocinas e citocinas MCP-1/CCL2, IL-1 β , 6CKine/CCL21, IFN- γ , MIP-1 α /CCL3, MDC/CCL22 e IL8/CXCL8 que estão ligadas ao aumento da inflamação no tumor. Além disso, há um movimento de aumento de concentração de citocinas/quimiocinas MIG/CXCL9, considerada anti-inflamatória. Com isso, é possível sugerir que a realização de várias sessões de exercício físico, podem ocasionar uma modificação do perfil inflamatório, diminuindo a pró inflamação de pacientes com câncer de mama, quando um protocolo de exercício físico for realizado antes do tratamento, induzindo um potencial efeito protetor nessas pacientes. Contudo, para confirmar esses achados, a realização de um estudo que investigue o efeito de várias sessões de exercício físico no perfil inflamatório de mulheres com câncer de mama é fundamental para confirmar a hipótese de que os efeitos do exercício físico são cumulativos e podem causar um efeito protetor, diminuindo a inflamação na mulher com câncer de mama, desde que realizado no período pré-tratamento. Além disso, sugere-se que futuros estudos com maior número de participantes e mais pontos de coleta de sangue sejam realizados. Importante salientar que esse estudo foi realizado no período pré tratamento, o que torna o trabalho inédito.

Referências Bibliográficas

- ALLAVENA, P. et al. The Yin-Yang of tumor-associated macrophages in neoplastic progression and immune surveillance. **Immunological Reviews**, v. 222, n. 1, p. 155–161, 19 abr. 2008.
- APTE, R. N.; VORONOV, E. Immunotherapeutic approaches of IL-1 neutralization in the tumor microenvironment. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 102, n. 2, p. 293–306, 18 maio 2017.
- ARGILÉS, J. M. et al. Cachexia and sarcopenia: mechanisms and potential targets for intervention. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 22, p. 100–106, jun. 2015.
- BAI, L. et al. Upregulation of SIRT6 predicts poor prognosis and promotes metastasis of non-small cell lung cancer via the ERK1/2/MMP9 pathway. **Oncotarget**, v. 7, n. 26, p. 40377–40386, 28 jun. 2016.
- BARZAMAN, K. et al. Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. **International Immunopharmacology**, v. 84, p. 106535, jul. 2020.
- BEAVER, W. L. et al. **A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange.** [s.l.: s.n.].
- BELL, G. J. et al. Effect of concurrent strength and endurance training on skeletal muscle properties and hormone concentrations in humans. **European Journal of Applied Physiology**, v. 81, n. 5, p. 418–427, 11 fev. 2000.
- BETOF, A. S. et al. Modulation of Murine Breast Tumor Vascularity, Hypoxia, and Chemotherapeutic Response by Exercise. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 107, n. 5, maio 2015.
- BIGLEY, A. B. et al. Acute exercise preferentially redeploys NK-cells with a highly-differentiated phenotype and augments cytotoxicity against lymphoma and multiple myeloma target cells. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 39, p. 160–171, jul. 2014.
- BLAS, X. et al. Skeletal muscle atrophy and dysfunction in breast cancer patients: role for chemotherapy-derived oxidant stress. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 315, p. 744–756, 2018.
- BOIMEL, P. J. et al. Contribution of CXCL12 secretion to invasion of breast cancer cells. **Breast Cancer Research**, v. 14, n. 1, p. R23, 7 fev. 2012.
- BROWN, L. E.; WEIR, J. P. Accurate Assessment of Muscular Strength and Power JEPonline Journal of Exercise Physiologyonline ASEP Procedures Recommendation ASEP PROCEDURES RECOMMENDATION I: ACCURATE ASSESSMENT OF MUSCULAR STRENGTH AND POWER. **International Electronic Journal**, v. 4, p. 1–21, 2001.
- BRUMMER, G. et al. Chemokine Signaling Facilitates Early-Stage Breast Cancer Survival and Invasion through Fibroblast-Dependent Mechanisms. **Molecular Cancer Research**, v. 16, n. 2, p. 296–308, 1 fev. 2018.
- BURD, R. et al. Tumor cell apoptosis, lymphocyte recruitment and tumor vascular changes are induced by low temperature, long duration (fever-like) whole body hyperthermia. **Journal of Cellular Physiology**, v. 177, n. 1, p. 137–147, out. 1998.

- BUZAGLO, G. B. B. et al. The Therapeutic Potential of Physical Exercise in Cancer: The Role of Chemokines. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 24, p. 13740, 23 dez. 2024.
- CAMPBELL, J. P.; TURNER, J. E. **Debunking the myth of exercise-induced immune suppression: Redefining the impact of exercise on immunological health across the lifespan.** **Frontiers in Immunology** Frontiers Media S.A., , 16 abr. 2018.
- CENDROWICZ, E. et al. The Role of Macrophages in Cancer Development and Therapy. **Cancers**, v. 13, n. 8, p. 1946, 18 abr. 2021.
- CHEN, B. et al. Bioinformatics identification of CCL8/21 as potential prognostic biomarkers in breast cancer microenvironment. **Bioscience Reports**, v. 40, n. 11, 27 nov. 2020.
- CLIFFORD, B. K. et al. The effect of exercise intensity on the inflammatory profile of cancer survivors: A randomised crossover study. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 53, n. 7, 1 jul. 2023.
- COURNEYA, K. S. et al. Effects of Aerobic and Resistance Exercise in Breast Cancer Patients Receiving Adjuvant Chemotherapy: A Multicenter Randomized Controlled Trial. **Journal of Clinical Oncology**, v. 25, n. 28, p. 4396–4404, 1 out. 2007.
- CRUCERIU, D. et al. The dual role of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in breast cancer: molecular insights and therapeutic approaches. **Cellular Oncology**, v. 43, n. 1, p. 1–18, 3 fev. 2020.
- DAI, C.-L. et al. CXCL6: A potential therapeutic target for inflammation and cancer. **Clinical and Experimental Medicine**, v. 23, n. 8, p. 4413–4427, 23 ago. 2023.
- DAVID, B. A.; KUBES, P. Exploring the complex role of chemokines and chemoattractants in vivo on leukocyte dynamics. **Immunological reviews**, v. 289, n. 1, p. 9–30, 11 maio 2019.
- DE PAULO, T. R. S. et al. Comparing exercise responses to aerobic plus resistance training between postmenopausal breast cancer survivors undergoing aromatase inhibitor therapy and healthy women. **Disability and Rehabilitation**, v. 41, n. 18, p. 2175–2182, 28 ago. 2019.
- DEL PRETE, A. et al. Molecular pathways in cancer-related inflammation. **Biochimica Medica**, p. 264–275, 2011.
- DENK, D.; GRETEN, F. R. Inflammation: the incubator of the tumor microenvironment. **Trends in Cancer**, v. 8, n. 11, p. 901–914, nov. 2022.
- DEWAN, M. Z. et al. Stromal cell-derived factor-1 and CXCR4 receptor interaction in tumor growth and metastasis of breast cancer. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 60, n. 6, p. 273–276, jul. 2006.
- DINARELLO, C. A. Historical insights into cytokines. **European Journal of Immunology**, v. 37, n. S1, p. S34–S45, nov. 2007.
- DINARELLO, C. A. et al. Suppression of innate inflammation and immunity by interleukin-37. **European Journal of Immunology**, v. 46, n. 5, p. 1067–1081, 6 maio 2016.
- DU, R. et al. HIF1 α Induces the Recruitment of Bone Marrow-Derived Vascular Modulatory Cells to Regulate Tumor Angiogenesis and Invasion. **Cancer Cell**, v. 13, n. 3, p. 206–220, mar. 2008.

- ESMAILIYAN, M. et al. Effects of 8-week noncontinuous aerobic exercise on the levels of CCL2, CCL5, and their respective receptors in female BALB/C mice suffering from breast cancer. **International Journal of Preventive Medicine**, v. 13, n. 1, p. 55, 2022.
- ESTEVEZ, M.; MONTEIRO, M. P.; DUARTE, J. A. Role of Regular Physical Exercise in Tumor Vasculature: Favorable Modulator of Tumor Milieu. **International Journal of Sports Medicine**, v. 42, n. 05, p. 389–406, 11 maio 2021.
- FENG, Y. et al. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. **Genes & Diseases**, v. 5, n. 2, p. 77–106, jun. 2018.
- FINGER, E. C.; GIACCIA, A. J. Hypoxia, inflammation, and the tumor microenvironment in metastatic disease. **Cancer and Metastasis Reviews**, v. 29, n. 2, p. 285–293, 15 jun. 2010.
- FLOREZ BEDOYA, C. A. et al. Exercise during preoperative therapy increases tumor vascularity in pancreatic tumor patients. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 13966, 27 set. 2019.
- GAMBARDELLA, V. et al. The role of tumor-associated macrophages in gastric cancer development and their potential as a therapeutic target. **Cancer Treatment Reviews**, v. 86, p. 102015, jun. 2020.
- GENARD G; LUCAS S; MICHIELS C. Reprogramming of Tumor-Associated Macrophages with Anticancer Therapies: Radiotherapy versus Chemo- and Immunotherapies. . **Frontiers in Immunology**, v. 8, p. 828, 2017.
- GOMES-SANTOS, I. L. et al. Exercise Training Improves Tumor Control by Increasing CD8+ T-cell Infiltration via CXCR3 Signaling and Sensitizes Breast Cancer to Immune Checkpoint Blockade. **Cancer Immunology Research**, v. 9, n. 7, p. 765–778, 1 jul. 2021.
- GRETEN, F. R.; GRIVENNIKOV, S. I. Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences. **Immunity**, v. 51, n. 1, p. 27–41, jul. 2019.
- GRIFFITH, J. W.; SOKOL, C. L.; LUSTER, A. D. Chemokines and chemokine receptors: positioning cells for host defense and immunity. **Annual review of immunology**, v. 32, n. 1, p. 659–702, 21 mar. 2014.
- GUERREIRO, R.; SANTOS-COSTA, Q.; AZEVEDO-PEREIRA, J. M. [The chemokines and their receptors: characteristics and physiological functions]. **Acta medica portuguesa**, v. 24 Suppl 4, p. 967–76, dez. 2011.
- HAGSTROM, A. D. et al. The effect of resistance training on markers of immune function and inflammation in previously sedentary women recovering from breast cancer: a randomized controlled trial. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 155, n. 3, p. 471–482, 28 fev. 2016.
- HAN, B. et al. A Chemokine Regulatory Loop Induces Cholesterol Synthesis in Lung-Colonizing Triple-Negative Breast Cancer Cells to Fuel Metastatic Growth. **Molecular Therapy**, v. 30, n. 2, p. 672–687, 2022.
- HAWLEY, J. A. et al. Integrative biology of exercise. **Cell**, v. 159, n. 4, p. 738–49, 6 nov. 2014.
- HITCHON, C. et al. Hypoxia-induced production of stromal cell-derived factor 1 (CXCL12) and vascular endothelial growth factor by synovial fibroblasts. **Arthritis & Rheumatism**, v. 46, n. 10, p. 2587–2597, 16 out. 2002.

- HOJMAN, P. et al. Molecular Mechanisms Linking Exercise to Cancer Prevention and Treatment. **Cell metabolism**, v. 27, n. 1, p. 10–21, 9 jan. 2018.
- HOLLMÉN, M. et al. G-CSF regulates macrophage phenotype and associates with poor overall survival in human triple-negative breast cancer. **OncoImmunology**, v. 5, n. 3, p. e1115177, 3 mar. 2016.
- INCA. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA
MINISTÉRIO DA SAÚDE INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER ESTIMATIVA 2023:
INCIDÊNCIA DE CÂNCER NO BRASIL. **Ministério da Saúde**. [s.l.: s.n.]. . Acesso em: 19 abr. 2024.
- JAIN RK. Antiangiogenesis strategies revisited: from starving tumors to alleviating hypoxia. **Cancer cell**, v. 26, n. 5, p. 605–622, 2014.
- JONES, L. W. et al. Cardiovascular Reserve and Risk Profile of Postmenopausal Women After Chemoendocrine Therapy for Hormone Receptor–Positive Operable Breast Cancer. **The Oncologist**, v. 12, n. 10, p. 1156–1164, 1 out. 2007.
- KHOSRAVI, N. et al. Exercise training, circulating cytokine levels and immune function in cancer survivors: A meta-analysis. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 81, p. 92–104, out. 2019.
- KIM, T. H.; CHANG, J. S.; KONG, I. D. Effects of Exercise Training on Physical Fitness and Biomarker Levels in Breast Cancer Survivors. **Journal of Lifestyle Medicine**, v. 7, n. 2, p. 55–62, 31 jul. 2017.
- KOELWYN, G. J. et al. Exercise in Regulation of Inflammation-Immune Axis Function in Cancer Initiation and Progression. **Oncology (Williston Park, N.Y.)**, v. 29, n. 12, p. 908–20, 922, dez. 2015.
- KOELWYN, G. J. et al. Exercise-dependent regulation of the tumour microenvironment. **Nature reviews. Cancer**, v. 17, n. 10, p. 620–632, 25 set. 2017.
- KOHLI, K.; PILLARISETTY, V. G.; KIM, T. S. Key chemokines direct migration of immune cells in solid tumors. **Cancer gene therapy**, v. 29, n. 1, p. 10–21, 18 jan. 2022.
- KORBECKI, J. et al. CC Chemokines in a Tumor: A Review of Pro-Cancer and Anti-Cancer Properties of Receptors CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, and CCR10 Ligands. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 20, p. 7619, 15 out. 2020a.
- KORBECKI, J. et al. CC Chemokines in a Tumor: A Review of Pro-Cancer and Anti-Cancer Properties of the Ligands of Receptors CCR1, CCR2, CCR3, and CCR4. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 21, p. 8412, 9 nov. 2020b.
- LABOVSKY, V. et al. Association Between Ligands and Receptors Related to the Progression of Early Breast Cancer in Tumor Epithelial and Stromal Cells. **Clinical Breast Cancer**, v. 15, n. 1, p. e13–e21, 1 fev. 2015.
- LEHMANN, B. D. et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. **Journal of Clinical Investigation**, v. 121, n. 7, p. 2750–2767, 1 jul. 2011.
- LIN, L. et al. CCL18 from tumor-associated macrophages promotes angiogenesis in breast cancer. **Oncotarget**, v. 6, n. 33, p. 34758–34773, 2015.

- LIU, H. et al. Chemokines and chemokine receptors: A new strategy for breast cancer therapy. **Cancer Medicine**, v. 9, n. 11, p. 3786–3799, 6 jun. 2020.
- LUGANO, R.; RAMACHANDRAN, M.; DIMBERG, A. Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 77, n. 9, p. 1745–1770, 6 maio 2020.
- MANTOVANI, A. et al. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. **Trends in Immunology**, v. 23, n. 11, p. 549–555, 1 nov. 2002.
- MANTOVANI, A.; SICA, A. Macrophages, innate immunity and cancer: balance, tolerance, and diversity. **Current Opinion in Immunology**, v. 22, n. 2, p. 231–237, abr. 2010.
- MARTIN, L. et al. Diagnostic criteria for the classification of cancer-associated weight loss. **Journal of Clinical Oncology**, v. 33, n. 1, p. 90–99, 1 jan. 2015.
- MASIH, M. et al. Role of chemokines in breast cancer. **Cytokine**, v. 155, p. 155909, jul. 2022.
- MAZZUCA F et al. Lean body mass wasting and toxicity in early breast cancer patients receiving anthracyclines. **Oncotarget**, v. 9, n. 39, p. 25714–25722, 2018.
- MCCULLOUGH, D. J. et al. Modulation of Blood Flow, Hypoxia, and Vascular Function in Orthotopic Prostate Tumors During Exercise. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 106, n. 4, abr. 2014.
- MENESES-ECHÁVEZ, J. F. et al. The Effect of Exercise Training on Mediators of Inflammation in Breast Cancer Survivors: A Systematic Review with Meta-analysis. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 25, n. 7, p. 1009–1017, 1 jul. 2016.
- MEYER, T. et al. Is lactic acidosis a cause of exercise induced hyperventilation at the respiratory compensation point? **British Journal of Sports Medicine**, v. 38, n. 5, p. 622–625, out. 2004.
- MIJWEL, S. et al. Exercise training during chemotherapy preserves skeletal muscle fiber area, capillarization, and mitochondrial content in patients with breast cancer. **The FASEB Journal**, v. 32, n. 10, p. 5495–5505, 11 out. 2018.
- MIYAKE, M. et al. Expression of CXCL1 in human endothelial cells induces angiogenesis through the CXCR2 receptor and the ERK1/2 and EGF pathways. **Laboratory Investigation**, v. 93, n. 7, p. 768–778, jul. 2013.
- MOREIN, D. et al. Continuous Inflammatory Stimulation Leads via Metabolic Plasticity to a Prometastatic Phenotype in Triple-Negative Breast Cancer Cells. **Cells**, v. 10, n. 6, p. 1356, 31 maio 2021.
- MÜLLER, A. et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. **Nature**, v. 410, n. 1, p. 50–56, 2001.
- NETEA, M. G. et al. A guiding map for inflammation. **Nature Immunology**, v. 18, n. 8, p. 826–831, 1 ago. 2017.
- NIEMAN, D. C.; WENTZ, L. M. The compelling link between physical activity and the body's defense system. **Journal of Sport and Health Science**, v. 8, n. 3, p. 201–217, maio 2019.

- ORIMO, A. et al. Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. **Cell**, v. 121, n. 3, p. 335–348, 6 maio 2005.
- OUYANG, W. et al. Regulation and Functions of the IL-10 Family of Cytokines in Inflammation and Disease. **Annual Review of Immunology**, v. 29, n. 1, p. 71–109, 23 abr. 2011.
- OZGA, A. J.; CHOW, M. T.; LUSTER, A. D. Chemokines and the immune response to cancer. **Immunity**, v. 54, n. 5, p. 859–874, 11 maio 2021.
- PALAZON, A. et al. An HIF-1 α /VEGF-A Axis in Cytotoxic T Cells Regulates Tumor Progression. **Cancer Cell**, v. 32, n. 5, p. 669–683.e5, nov. 2017.
- PALOMINO DC; MARTI LC. Chemokines and immunity. **Einstein (Sao Paulo)**, v. 13, n. 3, p. 469–473, 2015.
- PATHRIA, P.; LOUIS, T. L.; VARNER, J. A. Targeting Tumor-Associated Macrophages in Cancer. **Trends in Immunology**, v. 40, n. 4, p. 310–327, abr. 2019.
- PEDERSEN BK; HOFFMAN-GOETZ L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. **2000 Jul;80(3):1055-81.**, v. 80, n. 3, p. 1055–1081, 2000.
- PEDERSEN, L. et al. Voluntary Running Suppresses Tumor Growth through Epinephrine- and IL-6-Dependent NK Cell Mobilization and Redistribution. **Cell Metabolism**, v. 23, n. 3, p. 554–562, mar. 2016.
- PIETROBON, V.; MARINCOLA, F. M. Hypoxia and the phenomenon of immune exclusion. **Journal of Translational Medicine**, v. 19, n. 1, p. 9, 6 jan. 2021.
- RAZA, S. et al. Multifaceted role of chemokines in solid tumors: From biology to therapy. **Seminars in Cancer Biology**, v. 86, p. 1105–1121, nov. 2022.
- RIZEQ, B.; MALKI, M. I. The Role of CCL21/CCR7 Chemokine Axis in Breast Cancer Progression. **Cancers**, v. 12, n. 4, p. 1036, 23 abr. 2020.
- ROXBURGH, C. S. D.; MCMILLAN, D. C. Cancer and systemic inflammation: treat the tumour and treat the host. **British Journal of Cancer**, v. 110, n. 6, p. 1409–1412, 18 mar. 2014.
- RUBINSTEIN-ACHIASAF, L. et al. Persistent Inflammatory Stimulation Drives the Conversion of MSCs to Inflammatory CAFs That Promote Pro-Metastatic Characteristics in Breast Cancer Cells. **Cancers**, v. 13, n. 6, p. 1472, 23 mar. 2021.
- SANTANA-HERNÁNDEZ, S. et al. NK cell-triggered CCL5/IFN γ -CXCL9/10 axis underlies the clinical efficacy of neoadjuvant anti-HER2 antibodies in breast cancer. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 43, n. 1, p. 10, 3 jan. 2024.
- SCHEFFER, D. DA L.; LATINI, A. Exercise-induced immune system response: Anti-inflammatory status on peripheral and central organs. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1866, n. 10, p. 165823, out. 2020.
- SEMENZA, G. L. Oxygen Sensing, Hypoxia-Inducible Factors, and Disease Pathophysiology. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 9, n. 1, p. 47–71, 24 jan. 2014.
- SETHUMADHAVAN, S. et al. Hypoxia and hypoxia-inducible factor (HIF) downregulate antigen-presenting MHC class I molecules limiting tumor cell recognition by T cells. **PLOS ONE**, v. 12, n. 11, p. e0187314, 20 nov. 2017.

SETIAWAN, T. et al. Cancer cachexia: molecular mechanisms and treatment strategies. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 16, n. 1, p. 54, 22 maio 2023.

SILVA, G. R. P. DA et al. Tendência da taxa de mortalidade por câncer de mama em mulheres com 20 anos ou mais no Brasil, 2005-2019. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 29, n. 3, 2024.

SIMON, J. et al. **Lactate accumulation relative to the anaerobic and respiratory compensation thresholds**. [s.l: s.n.].

SIMPSON, R. J. et al. Exercise and the Regulation of Immune Functions. Em: [s.l: s.n.]. p. 355–380.

SINGH, N. et al. Inflammation and cancer. **Annals of African Medicine**, v. 18, n. 3, p. 121, 2019.

SUN, J. et al. Hypoxia induces T-cell apoptosis by inhibiting chemokine C receptor 7 expression: the role of adenosine receptor A2. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 7, n. 1, p. 77–82, 23 jan. 2010.

SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, maio 2021.

TEJCHMAN, A. et al. Tumor hypoxia modulates podoplanin/CCL21 interactions in CCR7+ NK cell recruitment and CCR7+ tumor cell mobilization. **Oncotarget**, v. 8, n. 19, p. 31876–31887, 9 maio 2017.

TOKUNAGA, R. et al. CXCL9, CXCL10, CXCL11/CXCR3 axis for immune activation – A target for novel cancer therapy. **Cancer Treatment Reviews**, v. 63, p. 40–47, 1 fev. 2018.

TURNER, M. D. et al. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1843, n. 11, p. 2563–2582, nov. 2014.

WANG, Y. et al. TRIB1 promotes colorectal cancer cell migration and invasion through activation MMP-2 via FAK/Src and ERK pathways. **Oncotarget**, v. 8, n. 29, p. 47931–47942, 18 jul. 2017.

WILLIAMS, C. B.; YEH, E. S.; SOLOFF, A. C. Tumor-associated macrophages: unwitting accomplices in breast cancer malignancy. **npj Breast Cancer**, v. 2, n. 1, p. 15025, 20 jan. 2016.

WINTERS-STONE, K. M. et al. The Effects of Resistance Exercise on Biomarkers of Breast Cancer Prognosis: A Pooled Analysis of Three Randomized Trials. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 27, n. 2, p. 146–153, 1 fev. 2018.

WU, T. et al. The Role of CXC Chemokines in Cancer Progression. **Cancers**, v. 15, n. 1, p. 167, 2022.

WYNN, T. A.; CHAWLA, A.; POLLARD, J. W. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 445–455, 24 abr. 2013.

XIONG, Y. et al. CCL21/CCR7 interaction promotes cellular migration and invasion via modulation of the MEK/ERK1/2 signaling pathway and correlates with lymphatic metastatic spread and poor prognosis in urinary bladder cancer. **International Journal of Oncology**, v. 51, n. 1, p. 75–90, jul. 2017.

YANG, C. et al. CXCL1 stimulates migration and invasion in ER-negative breast cancer cells via activation of the ERK/MMP2/9 signaling axis. **International Journal of Oncology**, v. 55, n. 3, p. 684–696, 15 jul. 2019.

YANG, L.; ZHANG, Y. Tumor-associated macrophages: from basic research to clinical application. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 10, n. 1, p. 58, 28 dez. 2017.

YANG, X. et al. Targeted in vivo expression of IFN-gamma-inducible protein 10 induces specific antitumor activity. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 80, n. 6, p. 1434–1444, 2006.

YOSHIMURA, T. et al. The chemokine monocyte chemoattractant protein-1/CCL2 is a promoter of breast cancer metastasis. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 20, n. 7, p. 714–738, 19 maio 2023.

YU, A. F. et al. Long-term Cardiopulmonary Consequences of Treatment-Induced Cardiotoxicity in Survivors of ERBB2-Positive Breast Cancer. **JAMA Cardiology**, v. 5, n. 3, p. 309–317, 1 mar. 2020.

ZHANG, A. et al. The Role of Ki67 in Evaluating Neoadjuvant Endocrine Therapy of Hormone Receptor-Positive Breast Cancer. **Frontiers in Endocrinology**, v. 12, 3 nov. 2021.

ZHANG, J.; VEERAMACHANENI, N. Targeting interleukin-1 β and inflammation in lung cancer. **Biomarker Research**, v. 10, n. 1, p. 5, 27 dez. 2022.

ZHANG, Q. et al. CCL5-Mediated Th2 Immune Polarization Promotes Metastasis in Luminal Breast Cancer. . **Canc. Res**, v. 75, n. 20, p. 4312–21, 2015. , v. 75, n. 20, p. 4312–4321, 2015.

ZHU, C. et al. Exercise in cancer prevention and anticancer therapy: Efficacy, molecular mechanisms and clinical information. **Cancer Letters**, v. 544, n. 544, p. 215814, set. 2022.

ZLOTNIK, A.; YOSHIE, O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. **Immunity**, v. 12, p. 121–127, 2000.

ANEXO

Anexo 1. Autorização de armazenamento de material biológico



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
HOSPITAL DA MULHER PROF. DR. JOSÉ ARISTODEMO PINOTTI



DECLARAÇÕES DE GERENCIAMENTO E RESPONSABILIDADE INSTITUCIONAL

Ao Comitê de Ética em Pesquisa – CEP
Pró-Reitoria de Pesquisa (PRPY) UNICAMP

Declaramos, a fim de viabilizar a constituição do Biobanco do CAISM, sob a responsabilidade do pesquisador Prof. Dr. Luis Otávio Zanatta Sarian, que o Hospital da Mulher Prof. José Aristodemo Pinotti - UNICAMP assume a responsabilidade de fazer cumprir os termos das Resoluções nº 466/12, de 12 de dezembro de 2012, e 441/11, de 12 de maio de 2011, do Conselho Nacional de Saúde e demais resoluções complementares pertinentes ao armazenamento de amostras humanas para fins de pesquisa. Declaramos ainda que a instituição zelará para que o pesquisador cumpra os objetivos do protocolo de desenvolvimento do Biobanco-CAISM por meio de acompanhamento do departamento de origem dos pesquisadores e apresentação de relatório anual enviado ao CEP PRPY/UNICAMP. O responsável pelo Biobanco-CAISM declara ainda que a área do Laboratório de Patologia Especializada do Hospital da Mulher Prof. José Aristodemo Pinotti da FCM-UNICAMP dispõe da infraestrutura necessária para a adequada organização e guarda do material armazenado.

De acordo e ciente,

Campinas, 3 de abril de 2020

Prof. Dr. Luis Otávio Zanatta Sarian
Coordenador do Biobanco do CAISM
CPF: 254.725.418-24

Prof. Dr. José Vassallo
Patologista responsável - Laboratório de Patologia Especializada
CPF: 030.737.668-04

Prof. Dr. João Renato Bennini Júnior
Vice-Diretor do Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti
CPF: 261.715.998-16

Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti – UNICAMP
Rua Alexander Fleming, nº 101 – CEP: 13083-881 – Campinas – São Paulo – Brasil
Telefone: (19) 3521-9333

